

THÈSE

483

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE DE PARIS

(Diplôme d'État)

PAR ARNAUD PIERRE

Ancien Externe des Hôpitaux de Paris

Moniteur de Bactériologie à la Faculté de Paris

Né le 20 Février 1917 à Billancourt (Seine)

**Contribution à l'étude
de la diffusion dans le tissu conjonctif
des particules colorées ou virulentes**

Présentée et soutenue publiquement le

19 DEC 1944

1944

Président de thèse: P. GASTINEL, Professeur

Travail du Laboratoire de Bactériologie
de la Faculté de Médecine de Paris.

(Professeur Pierre GASTINEL)

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1944

FACULTE DE MEDECINE DE PARIS

Noim du Candidat : **ARNAUD.**

Prénom : **Pierre.**

Date de la soutenance :

Numéro d'ordre :

ARNAUD (Pierre). — Contribution à l'étude de la diffusion dans le tissu conjonctif des particules colorées ou virulentes. — Ed. Jouve et C^{ie} 1944. In-8°, III p.

(Thèse de Méd. (Et.), Paris, 1944,
N°)

ARNAUD (Pierre). — Contribution à l'étude de la diffusion dans le tissu conjonctif des particules colorées ou virulentes. — Ed. Jouve et C^{ie} 1944. In-8°, III p.

(Thèse de Méd. (Et.), Paris, 1944,
N°)

ARNAUD (Pierre). — Contribution à l'étude de la diffusion dans le tissu conjonctif des particules colorées ou virulentes. — Ed. Jouve et C^{ie} 1944. In-8°, III p.

(Thèse de Méd. (Et.), Paris, 1944,
N°)

ARNAUD (Pierre). — Contribution à l'étude de la diffusion dans le tissu conjonctif des particules colorées ou virulentes. — Ed. Jouve et C^{ie} 1944. In-8°, III p.

(Thèse de Méd. (Et.), Paris, 1944,
N°)

THÈSE

POUR LE

DOCTORAT EN MÉDECINE DE PARIS

(Diplôme d'Etat)

PAR ARNAUD PIERRE

*Ancien Externe des Hôpitaux de Paris
Maître de Bactériologie à la Faculté de Paris*

Né le 20 Février 1917 à Billancourt (Seine)

Contribution à l'étude de la diffusion dans le tissu conjonctif des particules colorées ou virulentes

Présentée et soutenue publiquement le 1944

Président de thèse: P. GASTINEL, Professeur

Travail du Laboratoire de Bactériologie
de la Faculté de Médecine de Paris.

(Professeur Pierre GASTINEL)

PARIS

JOUVE & C^e, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1944

I. — PROFESSEURS

MM.

Anatomie	ROUVIERE.
Physiologie	Léon BINET.
Physique médicale	STROHL.
Chimie médicale	POLONOVSKI.
Bactériologie	GASTINEL.
Parasitologie et histoire naturelle médicale	BRUMPT.
Pathologie et thérapeutique générales	BAUDOUIN.
Pathologie médicale	CHABROL.
Pathologie chirurgicale	PETIT DU TAILLIS.
Anatomie pathologique	LEROUX.
Histologie	CHAMPY.
Pharmacologie et matière médicale	FLAZARD.
Thérapeutique	AUBERTIN.
Hygiène et médecine préventive	JOANNON.
Médecine légale	DUVOIR.
Histoire de la médecine et de la chirurgie	LIAN.
Pathologie expérimentale et comparée	Henri BENARD.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	Justin BESANÇON.
Clinique médicale	ABRAMI.
	FIESSINGER.
	PASTEUR-VALLÉRY-
	RADOT.
	HARVIER.
	CATHALA.
	ROBERT DEBRE.
Hygiène et clinique de la première enfance	GUILLAIN.
Clinique des maladies des enfants	GOUGEROT.
Clinique des maladies mentales et des maladies de l'encéphale	LEVY-VALENSI.
Clinique des maladies cutanées et syphilitiques	LEMIERRE.
Clinique des maladies du système nerveux	MONDOR.
Clinique des maladies infectieuses	BROCQ.
Clinique chirurgicale	CADENAT.
	QUENU.
	VELTER.
Clinique ophtalmologique	CHEVASSU.
Clinique urologique	LANTUEJOU.
Clinique d'accouchements	PORTES.
	LEVY-SOLAL.
Clinique gynécologique	MOCQUOT.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	LEVEUF.
Clinique thérapeutique médicale	LOEPER.
Clinique oto-rhino-laryngologique	LEMAITRE.
Clinique thérapeutique chirurgicale	SENEQUE.
Clinique propédeutique	M. VILLARET.
Clinique de la tuberculose	TROISIER.
Clinique chirurgicale orthopédique de l'adulte	MATHIEU.
Clinique de cardiologie	DONZELOT.
Clinique de neuro-chirurgie	Clovis VINCENT.
Professeurs sans chaire	DOGNON.
	GIROUD.
	JAYLE.
	OLIVIER.
	VERNE.
	SANNIE.

II. — AGREGES EN EXERCICE

MM.

AMELINE Pathologie chirurgicale.
 BARIETY Pathologie médicale.
 BERNARD Etienne. Pathologie médicale.
 BONNET Bactériologie.
 BOULIN Pathologie médicale.
 BROUET Pathologie médicale.
 BULLIARD Histologie.
 CACHERA Pathologie médicale.
 CORDIER Anatomie.
 COSTE Pathologie médicale.
 COUVELAIRE (Roger). Urologie.
 DELARUE Anatomie pathologique.
 DELAY Pathologie médicale.
 DEGREZ (H.) .. Physique.
 DESOILLE Médecine légale.
 DIGONNET Obstétrique.
 DOGNON Physique.
 FEVRE Pathologie chirurgicale.
 FUNCK-BRENTANO. Pathologie chirurgi-
 cale.
 GALLIARDParasitologie.
 GARCIN Pathologie médicale.
 M^{me} GAUTHIER-VILLARS. Anatomie pa-
 thologique.
 DE GENNES ... Pathologie médicale.
 GIROUD Histologie.

MM.

HAGUENAU ... Pathologie médicale.
 LACOMME Obstétrique.
 LAVIER Parasitologie.
 LELONG Pathologie médicale.
 LEMAIRE Pathologie expérimentale.
 LENEGRE Pathologie médicale.
 M^{me} J. LEVY... Pharmacologie.
 MARCHAL Pathologie médicale.
 MENEGAUX ... Pathologie chirurgicale.
 MOLLARET Pathologie médicale.
 MOUQUIN Pathologie médicale.
 PATEL Pathologie chirurgicale.
 RENARD Ophtalmologie.
 RICHEL Physiologie.
 SICARD Pathologie chirurgicale.
 SOULIE Pathologie médicale.
 SUREAU Obstétrique.
 TURPIN Pathologie médicale.

III. — AGREGES RAPPELES A L'EXERCICE

pour le service des examens

MM.

ALGLAVE Pathologie chirurgicale.
 CHAILLEY-BERT. Physiologie.
 GUENIOT Obstétrique.
 HEITZ-BOYER . Pathologie chirurgicale.
 HUGUENIN ... Anatomie Pathologique.

MM.

LE LORIER ... Obstétrique.
 NEVEU-LEMAIRE. Parasitologie.
 PIEDELIEVRE.. Médecine légale.
 VAUDESCAL ... Obstétrique.

**IV. — AGREGES CHARGES DE COURS
DE CLINIQUE ANNEXE
à titre permanent**

MM.		MM.	
ALAJOUANINE .	} Clinique médicale.	BASSET	} Clinique chirurgicale
BRULE		GATELLIER ...	
CHEVALLIER..		de GAUDART	
LAROCHE (G.)..		d'ALLAINES..	
MOREAU		MOURE	
MM.			
ECALLE	} Clinique obstétricale		
(VIGNES).....			

V. — CHARGES DE COURS

MM.	
LEDOUX-LEBARD	Radiologie clinique.
DECHAUME	Stomatologie.

Par délibération en date du 9 décembre 1798, l'Ecole a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées, doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

EN MEMOIRE DE :

MON PERE

Tué à la guerre 1914-1918

MON GRAND-PERE

MONSIEUR A. CROIXMARIE

Ingénieur des Ponts et Chaussées

*Que le souvenir inoubliable de sa
vie, toute pleine d'énergie méthodique
et d'infinie bonté, m'aide à suivre com-
me lui-même l'a toujours fait, le che-
min de la probité inflexible.*

A MA MERE

MADAME VEUVE ARNAUD-CROIXMARIE

Professeur de violon

*Comme ce témoignage de reconnais-
sance et d'amour — venant pourtant
du plus profond de mon cœur — est
faible à côté de tous les sacrifices que
tu as consentis pour élever tes enfants.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR ROBERT FASQUELLE
Chef de Clinique à la Faculté,
Directeur de l'Institut de Vaccine.

Qu'il me pardonne de lui dédier son propre ouvrage, mais qu'il trouve dans ce geste, l'image de ma reconnaissance profonde.

Dès mes premiers pas dans la médecine vous avez été pour moi un guide incomparable et un confident fraternel ; aussi au terme de mes études, je n'ai qu'une fierté et qu'un espoir : être et rester votre ami.

A MA FEMME ET A MES ENFANTS

Dont le tendre réconfort de leur amour immense, m'a tant aidé à passer les tristes moments de cette période sanglante.

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. GASTINEL
Professeur de Bactériologie à la Faculté.

Qu'il me permette de le remercier de m'avoir donné ce sujet de travail, dont la portée était tellement au-dessus de ma compétence.

Grâce à votre esprit clair, grâce à vos précieux conseils et votre inlassable patience, j'ai pu, près de vous, dans votre laboratoire, le réaliser.

Veillez trouver ici, Mon Cher Maître, l'expression de ma respectueuse reconnaissance et de toute mon admiration.

A MES MAITRES DES HOPITAUX DE PARIS

MONSIEUR LE PROFESSEUR CUNEO
MONSIEUR LE PROFESSEUR LEREBOULET
MONSIEUR LE PROFESSEUR LIAN
MONSIEUR LE PROFESSEUR BROCC
MONSIEUR LE PROFESSEUR COUVELAIRE
MONSIEUR LE DOCTEUR COTTENOT
MONSIEUR LE PROFESSEUR LEMAITRE

En reconnaissance de leur enseignement.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR VILLARET
A MONSIEUR LE PROFESSEUR JUSTIN-BESANÇON
A MONSIEUR LE PROFESSEUR CACHERA
A MONSIEUR LE DOCTEUR CHEVALLEY

*Je n'oublierai jamais vos visites au
lit du malade et les précieuses leçons
que vous nous avez prodiguées.*

*Croyez à l'expression de la respec-
tueuse gratitude de votre ancien
Externe.*

A MONSIEUR LE DOCTEUR MOUTIER
A MONSIEUR LE DOCTEUR LEPAGE
A MONSIEUR LE DOCTEUR BARDIN
A MONSIEUR LE DOCTEUR RACINE
A MONSIEUR LE DOCTEUR BRET

*Qu'ils trouvent ici tous les remercie-
ments de leur élève pour qui ils ont tant
montré de bonté.*

A TOUS CEUX QUI PROCURENT LA PAIX

INTRODUCTION

La Vaccine est peut-être la plus belle des maladies qui se soient jamais présentées à la perspicacité des biologistes.

En effet, en dehors de toutes les études qu'elle a permis aux « virologues » de poursuivre sur les ultra-virus, dont elle a toujours été le chef de file (et l'on sait combien de connaissances aujourd'hui classiques sur les ultra-virus ont été d'abord mises au point sur le virus vaccinal, qui se prête à une expérimentation animale et humaine plus facile que n'importe quel autre d'entre eux), la Vaccine en outre a été à l'origine de multiples recherches qui rapidement ont dépassé de loin le cadre limité de la maladie vaccinale pour aborder les grands problèmes de biologie générale.

A l'appui de cette opinion nous ne citerons que trois exemples :

1° De 1896 à 1898, BECLERE, CHAMBON et ST-YVES-MÉNARD (1), comparent l'effet immunisant de l'injection sous-cutanée de sérums prélevés chez des animaux antérieurement vaccinés, effet à manifestation rapide, caractérisé par une immunité incomplète à l'effet immunisant de l'injection sous-cutanée de lymphes vaccinales, effet à manifestation tardive, caractérisé par une immunité complète au bout de huit à dix jours.

Cette étude les amenait ainsi à préciser les caractères différentiels de l'*immunité active* et de l'*immunité passive*, alors méconnus, notion aujourd'hui à la base de toute l'immunologie.

2° En 1907-1910, VON PIRQUET décrit l'aspect différent des lésions vaccinales de *primo-inoculation* et de celles de *réinoculation*. Il crée à ce propos, le mot d'*allergie*, dont il est inutile de rappeler la fortune ultérieure,

sa signification dépassant de bien loin le cadre originel de la vaccine, des maladies infectieuses même, pour s'intégrer dans les problèmes les plus généraux de la biologie.

3° En 1915, TWORT mettant à l'étuve des boîtes de géloseensemencée de lymphovaccinale pour étudier le développement des germes contenus dans celle-ci, décrit la transformation vitreuse que subissent certaines colonies, transformation transmissible en série ; c'était, deux années avant que d'HERELLE ne crée le mot de *Bactériophage*, l'expérience primordiale où se manifestait la présence de ce « principe lytique » dont on sait combien la nature et l'origine ont été et sont encore au premier plan des discussions des bactériologistes.

Le fait constaté fortuitement en 1929 par DURAN-REYNALS (2-3), toujours à propos de la Vaccine, nous semble être d'une pareille importance générale.

Voici les conditions dans lesquelles fut entreprise l'expérience de DURAN-REYNALS et les développements auxquels elle aboutit.

Il étudiait l'effet sur le virus vaccinal *in-vitro* de broyats d'organes d'animaux immuns (54) ; pour se mettre à l'abri de toute erreur il étudiait comparativement l'effet sur le virus de broyats d'organes d'animaux neufs.

Abordant la question de l'effet virulicide de broyats de testicules de lapins immuns, il fut ainsi amené à étudier l'effet sur le virus vaccinal de broyats de testicules de lapins neufs. C'est alors qu'il constata que l'*adjonction de broyat de testicule de lapin neuf à un neuro-vaccin détermine une augmentation considérable de l'étendue des lésions cutanées*.

Cette découverte inopinée chez un animal, DURAN-REYNALS cherche à la confirmer aussitôt.

Sur 80 lapins, 78 fois, il fait une constatation semblable :

L'adjonction extemporanée d'extrait testiculaire au neuro-virus injecté par voie intradermique détermine une diffusion en surface de la lésion vaccinale.

Dès 1930, MAC-CLEAN, HOFFMANN et DURAN-REYNALS (4) élargissent la question; ils montrent que l'extrait testiculaire diffuse dans le derme de la même manière, des *germes pathogènes*, et même des *particules inertes* comme de l'encre de chine; *c'est donc, non sur les particules injectées, mais sur le tissu réceptif de l'hôte que s'exerce l'action de l'extrait testiculaire.*

Puis on reconnaît qu'une action diffusante comparable à celle du broyat testiculaire est exercée par des *extraits de certaines bactéries pathogènes, d'animaux venimeux*, de certains *cancers*, et DURAN-REYNALS (2) propose de donner à ces diverses préparations le nom de « *facteurs de diffusion* ». (30)

Pour ces motifs, le phénomène décrit par DURAN-REYNALS, nous paraît représenter une acquisition importante de physio-pathologie générale.

PLAN

Depuis plusieurs années, nous avons repris l'étude de ce problème de la diffusion des particules dans le tissu conjonctif.

Nous nous proposons d'en donner un exposé d'ensemble au cours duquel nous citerons les constatations que nous avons faites dans nos expériences personnelles.

Nous envisagerons ainsi successivement :

- Ce que détermine l'injection dans le derme d'Extrait testiculaire isolé ou associé à des particules colorées.
- La diffusion du virus vaccinal par l'Extrait testiculaire.
- La diffusion du bacille de Koch et de la Tuberculine par l'Extrait testiculaire.
- Les diverses sources de « facteurs de diffusion ».
- Leur isolement et leur préparation.
- Un essai de synthèse chimique des facteurs de diffusion.
- Leur mode d'action.
- Les déductions théoriques et pratiques qui nous semblent découler des précédentes constatations.

CHAPITRE PREMIER

CE QUE DÉTERMINE L'INJECTION DANS LE DERMÉ D'EXTRAIT TESTICULAIRE ISOLÉ OU ASSOCIÉ A DES PARTICULES COLORÉES

I. — ASPECT IMMÉDIAT DE L'INJECTION INTRADERMIQUE D'EXTRAIT TESTICULAIRE.

Tout le monde connaît depuis l'emploi fréquent des injections *intradermiques*, ce que l'on observe lorsque l'on introduit dans la peau un liquide quelconque.

La couche épidermique est soulevée sous forme d'une vésicule plus ou moins importante selon la quantité de liquide injectée, mais toujours les bords sont nets, réguliers et la surface qui forme « peau d'orange » a une teinte tranchant avec celle de la peau saine.

Cette vésicule disparaît après un temps variable, mais elle est toujours nettement visible cinq à six minutes après l'injection.

Avec une solution d'extrait testiculaire, le phénomène observé est différent (3) : dès le début de l'injection on note que la pression nécessaire à appliquer sur le piston de la seringue pour injecter est bien moins importante que dans le cas précédent.

Il ne se forme d'ailleurs aucune vésicule à bords nets, ceux-ci rejoignant en pente douce la peau saine : il semble que le volume de liquide injecté *s'étale immédiatement*, ne trouvant plus aucune résistance au sein du tissu conjonctif. La vésicule peu nette ainsi formée ne tarde pas à se confondre avec la peau environnante et, cinq à six minutes après l'injection, toute trace nette de vésicule a disparu.

MAC CLEAN compare les deux cas précédents aux deux phénomènes que l'on observe d'une part en déposant une goutte d'eau sur du papier huilé, d'autre part sur du papier buvard.

II. — EFFET DIFFUSANT DE L'EXTRAIT TESTICULAIRE SUR LES PARTICULES COLOREES INJECTEES PAR VOIE INTRADERMIQUE.

Pour juger de l'action générale des extraits testiculaires sur le tissu conjonctif, le mieux semblait être de recourir à des substances inertes plutôt qu'à des produits virulents.

En utilisant des particules colorées, on rendait visible par la coloration de la peau la diffusion de la substance injectée.

L'encre de chine paraît avoir été un des produits les plus utilisés par les auteurs (25). C'est aussi à elle que nous avons eu recours.

L'étude comparative de l'injection intradermique d'encre de chine seule ou d'encre de chine associée à de l'extrait testiculaire montre les faits suivants :

La vésicule d'encre de chine *seule* reste tendue ; pendant les cinq premières minutes, on ne note pas d'extension de l'aire primitivement colorée ; le lendemain, la tache est à peu près semblable .

Au contraire, l'encre de chine associée à l'extrait testiculaire *diffuse immédiatement* ; la tache noire en s'étendant pâlit à la périphérie ; le **lendemain** une nouvelle et très légère augmentation de surface de la tache est notable.

Si au lieu de laisser la diffusion se faire spontanément, on essaye de l'aider par la pression du pouce sur le point d'injection, on constate qu'en l'absence de l'extrait testiculaire la pression exercée reste presque sans aucun effet ; tandis que la pression sur la tache où l'encre de chine est associée à l'extrait testiculaire n'a pas besoin d'être bien forte pour aboutir à une progression parfois très étendue des particules d'encre ; on remarque que

la progression se fait dans le sens où s'exerce la pression du doigt, aussi bien vers la région dorsale que vers la région ventrale de l'animal ou même latéralement.

De telles expériences nous offrent un moyen facile de mesurer l'étendue de la diffusion par rapport au temps, puisque l'aire colorée par l'encre de chine peut être mesurée facilement, grâce au planimètre par exemple.

Nous pouvons donc représenter par une courbe (4) la marche de l'extension du liquide en surface, en prenant l'axe des abscisses pour noter la valeur du temps et l'axe des ordonnées pour la valeur de la surface.

Ces expériences peuvent aussi être conçues de telle manière qu'elles permettent d'apprécier le pouvoir de diffusion de l'extrait testiculaire, c'est-à-dire en somme de titrer son activité diffusante. Il suffit d'utiliser comparativement l'extrait testiculaire à des dilutions successives : un dixième, un centième, un millième, etc...

Toutes nos expériences ont été faites sur des lapins adultes à peau claire, d'abord épilés puis rasés sur la région dorsale. Les injections sont pratiquées de chaque côté de la ligne vertébrale, à égale distance dans le derme.

L'injection est poussée le plus rapidement possible, et, en même temps que l'on note le temps, on mesure la surface.

L'extrait testiculaire utilisé est de l'extrait brut de testicule de taureau, c'est-à-dire le liquide surnageant après centrifugation d'un broyat de testicule de taureau dans cinq parties d'eau physiologique.

L'encre de chine est de l'encre de chine pour histologie, diluée au tiers.

Les injections intradermiques sont d'un volume total d'un quart de centimètre cube comportant à parties égales l'encre de chine et l'extrait testiculaire.

Les différentes dilutions d'extrait testiculaire s'entendent à partir de l'extrait brut.

Pour les animaux témoins, l'extrait testiculaire est remplacé par la même quantité d'eau physiologique.

Résultats :

Le témoin injecté occupe une surface de 176 mm², cette surface, mesurée chaque minute ne montre aucune augmentation appréciable avant la quatrième minute, elle mesure alors 178 millimètres carrés. Une heure après la surface mesure à peine 200 millimètres carrés.

L'extrait testiculaire dilué au dixième diffuse si vite que la prise immédiate de la surface est impossible; nous prenons donc comme surface de base celle du témoin.

Quinze secondes après l'injection, la surface est de 452 millimètres carrés.

Une minute après nous notons 535 mm².

Après quatre minutes la surface couverte est de 572 millimètres carrés.

Le facteur dilué au centième donne comme chiffres pour les temps précédents :

324 mm², 422 mm² et 450 mm².

Le facteur au dix millième : 226, 260, 262. Après une heure la surface est très peu modifiée.

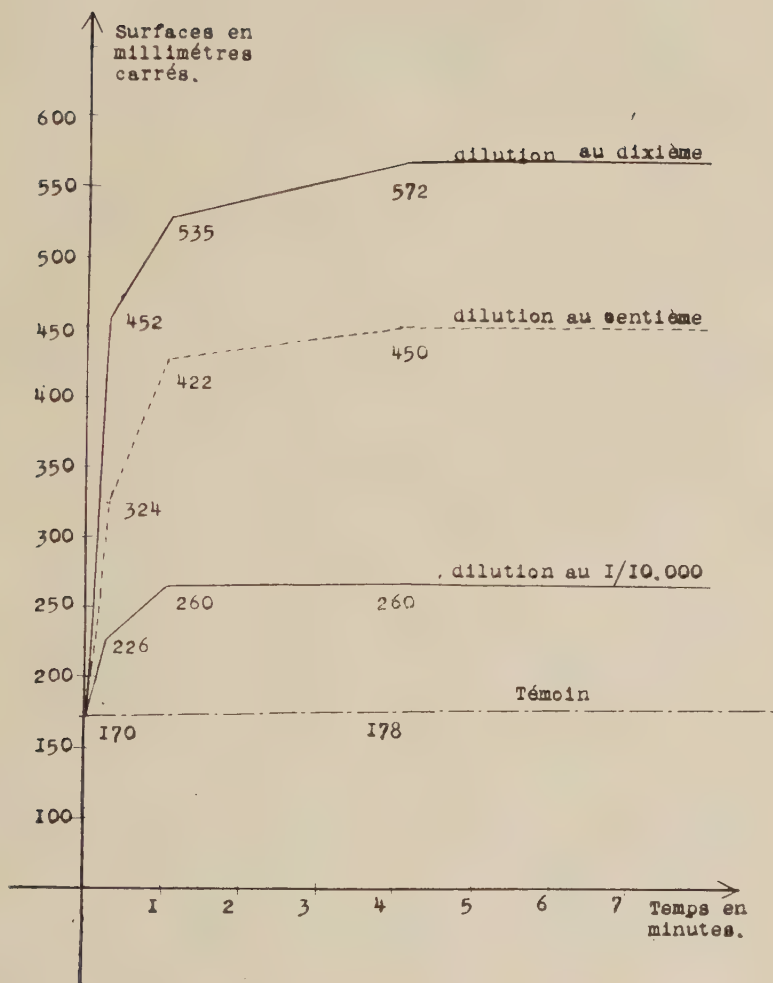
Le graphique représente ces résultats.

Les courbes obtenues sont des branches de paraboles ; elles nous permettent dès maintenant de constater que :

1° Après le brusque étalement de la surface colorée obtenue par l'extrait testiculaire dilué au dixième, celle-ci ne semble pas beaucoup s'étendre dans les heures qui suivent : le phénomène obtenu par l'extrait testiculaire est un phénomène immédiat. L'étalement du témoin est excessivement faible (4).

2° La surface a sensiblement la forme d'un cercle ; pourtant la diffusion semble être favorisée par la pesanteur, et la surface s'allonge légèrement dans son axe vertical.

3° Enfin, plus la tache augmente, plus la substance colorée se trouve diluée rendant la vision des bords, et par suite leur mesure plus difficile.



4° Nous remarquons dans les dilutions successives que jusqu'au dix-millième la diffusion est nette.

Nota : Nous n'avons pas représenté les courbes obtenues avec des dilutions plus poussées car l'expérience est moins nette, mais on peut encore mettre en évidence l'action de l'extrait testiculaire avec une dilution au cent-millième.

CHAPITRE II

EXTRAIT TESTICULAIRE ET VIRUS VACCINAL

Les expériences que nous venons de rapporter avaient donc montré :

— que l'effet de l'extrait testiculaire était de diffuser n'importe quelles particules dans le tissu conjonctif ;

— que le virus vaccinal se prêtait particulièrement bien à une telle diffusion.

Nous avons pensé qu'un certain nombre de problèmes concernant la vaccine pourraient être abordés d'une manière particulièrement nouvelle et intéressante grâce à l'artifice de la diffusion du virus par l'extrait testiculaire.

Ces problèmes sont au nombre de quatre :

— le premier a trait aux caractères dissemblables des deux virus vaccinaux de souche épidermique et de souche cérébrale ;

— le second à la pathogénie des vaccines généralisées ;

— le troisième à l'aspect des lésions déterminées par le virus vaccinal testiculaire ;

— le dernier enfin touche à la question de l'allergie vaccinale.

Nous allons les envisager successivement :

I. - CARACTERES DISSEMBLABLES DU VIRUS VACCINAL DE SOUCHE EPIDERMIQUE ET DE SOUCHE CEREBRALE.

Depuis les expériences de M. LEVADITI (52) qui l'ont conduit à la découverte du Neuro-vaccin, les recherches des différents auteurs aboutirent aux mêmes conclusions que celles qu'il avait lui-même énoncées :

Le vaccin recueilli sur la peau de la génisse (dénommé dermo-vaccin) * a essentiellement une affinité pour l'épiderme, tandis que le neuro-vaccin (broyat de cerveau d'animal mort d'encéphalite vaccinale, déterminée par injection intracérébrale de neuro-virus) cultive essentiellement dans la partie profonde du revêtement cutané (55).

Les deux expériences suivantes, que l'on peut renouveler aussi souvent qu'on le désire, le démontrent amplement :

Soit un vaccin de génisse.

Inoculons-le par *grattage* sur l'épiderme d'un lapin neuf et préalablement rasé, en différentes plages, chacune réservée à une dilution différente.

* Le terme de Dermo-Vaccin, dans le sens de vaccin de provenance tégumentaire, risque peut-être d'entretenir une confusion du fait de l'intensité des lésions dermiques produites par le neuro-vaccin. Si à l'origine, il avait paru à M. LEVADITI, que le neuro-vaccin par ses affinités pour l'ectoderme cutané et pour l'ectoderme invaginé (système nerveux) permettait de classer ses manifestations dans le groupe des ectodermoses neurotropes, il a insisté ultérieurement sur les modifications que les passages successifs avaient fait subir à ce neuro-vaccin, et il écrivait en 1937 (6) : « L'infection neuro-vaccinale du lapin n'est plus une ectodermose neurotrope absolument pure ; elle représente en réalité un état de transition entre les ectodermoses et les mésodermoses, tout en se rapprochant plus de ces dernières que les premières. » Pour ces motifs, il nous semblerait préférable de réserver au virus-vaccinal recueilli sur le flanc de la génisse l'appellation d'*épithélio-vaccin*, terme qui rappellerait d'ailleurs la dénomination proposée par BORREL (51).

Nous trouverons au bout de cinq jours que les plages au dixième, centième, millième et dix-millième donnent une éruption confluyente, tandis que les plages au cent-millième et millionième donnent une quantité de pustules facile à dénombrer ; on dit que ce vaccin est actif jusqu'au millionième.

Ce même vaccin, inoculons-le par *voie intradermique* sur les flancs d'un autre lapin, chaque injection intradermique correspondant à une dilution différente.

Nous constaterons qu'au bout de cinq jours sont apparues des lésions vaccinales, d'autant plus larges que la concentration est plus forte. En général, on obtient par cette méthode au cent-millième une toute petite pustule et rien au millionième.

Prenons maintenant un neuro-vaccin et recommençons la même expérience ; nous constaterons que, par grattage, nous n'obtenons d'éruption confluyente que jusqu'au centième, des pustules numérables jusqu'au dix-millième et en général rien au-delà. Signalons que ces pustules ont un caractère hémorragique, particulier au neuro-vaccin.

On aurait tendance à conclure que ce vaccin est moins actif que le premier. Or, sur le second lapin destiné aux injections de neuro-vaccin dans le derme, il est fréquent que l'on observe l'apparition d'une pustule jusqu'à la dilution au millionième. Force est bien de conclure qu'il n'y a pas qu'une différence de quantité entre ces deux virus, mais une différence de qualité. Ou encore, selon une hypothèse de M. LEVADITI (53) : il y aurait deux sortes de corpuscules vaccinaux : les uns à affinité épidermique, les autres pour les couches profondes du derme, chaque espèce de corpuscules coexistant dans les deux vaccins, mais à prédominance de corpuscules épidermotropes dans le vaccin de souche épidermique contrairement à ce qui se passerait dans le neuro-vaccin.

L'adjonction d'extrait testiculaire à l'une ou l'autre souche de virus vaccinal injecté par différentes voies

nous paraissait pouvoir constituer un nouveau moyen de préciser les caractères dissemblables de ces deux virus.

Nous avons réalisé dans ce but quatre séries d'expériences :

- dans la première série l'extrait testiculaire est adjoint à l'un ou l'autre virus injecté par voie intradermique,
- dans la seconde, l'extrait testiculaire est de même mélangé à chacune des deux souches, mais l'inoculation est faite par grattage épidermique ;
- dans la troisième, l'extrait testiculaire est injecté par la voie intra-veineuse tandis que les deux vaccins sont inoculés par grattage épidermique ;
- dans la quatrième, enfin, l'extrait testiculaire est injecté par la voie intra-veineuse, mais les vaccins sont injectés par voie intradermique.

Voici les principaux protocoles de ces quatre séries d'expériences :

1) Action de l'extrait testiculaire sur le vaccin de souche épidermique ou le neuro-vaccin injectés par voie épidermique

Lapin 48 du 28 mai 1943 :

Il reçoit du côté droit une injection intradermique de dermo-vaccin et une injection intradermique de neuro-vaccin. Du côté gauche, deux injections symétriques de dermo-vaccin et de neuro-vaccin cette fois associés à de l'extrait testiculaire.

Le 1^{er} juin on note du côté droit une lésion infiltrée entourée d'une aréole rouge, au point qui a reçu l'injection de neuro-vaccin. Du côté gauche on observe une infiltration d'une étendue double environ de celle du témoin au point qui a reçu l'injection de dermovaccin associé à de l'extrait testiculaire et une infiltration ayant gagné la plus grande partie du flanc de l'animal déterminée par l'injection de neuro-vaccin mélangé à de l'extrait testiculaire.

Le 7 juin, les lésions correspondant aux deux témoins et à l'injection de dermo-vaccin et d'extrait testiculaire, sont en régression tandis qu'une formidable eschare hémorragique répond à l'injection de neuro-vaccin associé à de l'extrait testiculaire.

Lapin 60 du 16 avril 1943 :

Reçoit du côté droit une injection intradermique de dermo-vaccin associé à de l'extrait testiculaire.

Le cinquième jour on note du côté droit une pustule vacinale typique et du côté gauche une lésion un peu plus large avec quelques petites lésions périphériques.

Lapin 58 du 10 avril 1943 :

Du côté droit injection intra-dermique de neuro-vaccin ; du côté gauche, injection intra-dermique de neuro-vaccin associé à de l'extrait testiculaire. On observe au cinquième jour une pustule à centre hémorragique du côté droit, du côté gauche une formidable lésion en cocarde qui se transforme progressivement en une très large eschare.

Les protocoles des lapins 55 du 16 juillet 1943 et du lapin 60 du 16 avril 1943 seraient exactement superposables aux précédents.

En somme, l'adjonction d'extrait testiculaire à un neuro-vaccin injecté par voie intradermique, détermine une augmentation considérable de la réaction hémorragique qui envahit toute une partie du flanc de l'animal et se transforme en une eschare qui tombera quinze à vingt jours plus tard (voir planche 1, fig. 1).

* Cette reproduction d'après le modèle vivant, est due à l'amabilité du peintre R. CHAILLOUX, que nous sommes heureux, ici, de remercier.

La lésion neuro-vaccinale diffusée est dix à cent fois plus grande que la lésion témoin.

Au contraire l'adjonction d'extrait testiculaire à un vaccin de souche épidermique, ne détermine qu'une très légère extension de la pustule, mais sans hémorragie ni eschare ; en un mot, *l'extrait testiculaire assure une diffusion beaucoup plus nette du neuro-virus que du dermo-virus, quand l'un ou l'autre est injecté par la voie intradermique.*

2) Action de l'extrait testiculaire sur le dermo-vaccin ou neuro-vaccin inoculés par grattage.

Lapin 57 du 7 avril 1943 :

Il est inoculé sur le flanc droit de dermo-vaccin par grattage : sur le flanc gauche de dermo-vaccin associé à de l'extrait testiculaire.

Le 13 avril 1943, l'éruption témoin et l'éruption correspondante à l'extrait testiculaire sont exactement semblables.

Lapin 59 du 13 avril 1943 :

Même protocole, mêmes résultats.

Lapin 68 du 27 septembre 1943 :

Du côté droit, grattage de neuro-vaccin, du côté gauche, grattage de neuro-vaccin associé à de l'extrait testiculaire.

Au cinquième jour les deux éruptions sont semblables à noter que chaque pustule est légèrement hémorragique, ainsi qu'il en est de règle chaque fois qu'il s'agit d'une éruption neuro-vaccinale.

Les résultats constatés dans cette série d'expériences ne nous paraissent donc révéler *aucune action de l'extrait testiculaire, lorsque celui-ci, au lieu d'être injecté comme dans la série précédente par la voie intradermique, est seulement déposé sur une zone tégumentaire scarifiée.*

3) Action de l'extrait testiculaire injecté par voie intraveineuse alors que le vaccin est inoculé par grattage.

Lapin 63 du 21 mai 1943 :

Il reçoit une injection intra-veineuse de un centimètre cube d'extrait testiculaire et immédiatement après une inoculation par grattage de dermo-vaccin.

Les éruptions chez les deux lapins sont absolument comparables.

Lapin 67 du 7 juillet 1943 :

Même protocole, mais en place de dermo-vaccin, l'inoculation est faite par grattage avec du neuro-vaccin.

Les éruptions chez les deux lapins sont absolument comparables.

On peut dire en somme que *l'injection par voie intra-veineuse d'extrait testiculaire ne détermine aucune modification dans l'aspect habituel respectif des pustules cutanées produites par l'un ou l'autre virus.*

Il n'y a aucune différence entre les lésions de l'animal ayant reçu de l'extrait testiculaire par voie intra-veineuse et celles de l'animal témoin.

Cette série d'expériences confirme d'autre part la précédente : l'extrait testiculaire, qu'il soit administré par voie intra-veineuse ou par dépôt sur les téguments scarifiés, n'entraîne aucune modification des lésions vaccinales déterminées par le grattage épidermique.

4) Action de l'extrait testiculaire injecté dans les veines sur un vaccin inoculé dans le derme.

Les deux lapins précédents, en même temps qu'ils avaient été inoculés par grattage sur une plage, avaient reçus sur une autre zone une intraderme contenant du neuro-vaccin pour le numéro 67 et du dermo-vaccin pour le n° 67.

Il en était de même des deux lapins témoins. Les pustules correspondant à ces injections intra-dermiques ont été absolument comparables chez le lapin ayant reçu de l'extrait testiculaire par voie intraveineuse et chez le lapin témoin en ce qui concerne le dermo-vaccin ; par contre, le lapin 67 a présenté au bout de cinq jours une pustule beaucoup plus large et plus hémorragique que le lapin lui servant de témoin.

Nous dirons donc que *l'adjonction d'extrait testiculaire par voie intraveineuse ne paraît pas déterminer de modification des lésions provoquées par le virus de provenance épidermique injecté par voie intradermique.*

Au contraire, l'adjonction dans les veines d'extrait testiculaire chez un lapin ayant reçu dans le derme du neuro-vaccin, détermine au cinquième jour une extension importante de la dimension de la lésion, avec surtout, une accentuation du caractère hémorragique toutefois moindre que dans le cas où l'extrait testiculaire était lui aussi directement injecté dans le derme.

De ces quatre séries d'expériences il semble donc qu'on puisse tirer les conclusions suivantes :

1° L'extrait testiculaire ne manifeste nettement son action que lorsqu'il se trouve en contact d'un virus qui, de lui-même est doué d'une affinité pour les couches profondes du derme comme le neuro-vaccin.

L'aspect hémorragique et nécrotique véritablement spectaculaire rencontré dans le cas de l'injection intradermique du mélange de neuro-vaccin et d'extrait testiculaire, n'est, en somme, que l'exagération de l'aspect légèrement hémorragique signalé par tous les auteurs dans le cas d'utilisation de neuro-virus.

2° L'extrait testiculaire n'agit essentiellement que lorsqu'il est introduit dans le derme en même temps que le virus et *au même point que lui*, ou tout au plus dans une zone très voisine.

L'action de l'extrait testiculaire injecté dans le torrent circulatoire n'apparaît que très limitée et est due sans doute à la pénétration par l'intermédiaire des capillaires de l'extrait testiculaire jusque dans le tissu conjonctif de la zone intéressée.

Comme nous le prévoyions par avance, l'emploi de l'extrait testiculaire constitue bien un *nouveau moyen de mettre en évidence les propriétés dissemblables des deux virus vaccinaux selon leur affinité épidermotrope ou dermoneurotrope*.

II. — VACCINE GENERALISEE ET EXTRAIT TESTICULAIRE.

Lucien CAMUS (6), dans toute une série d'expériences a montré que la vaccine généralisée était facile à obtenir dans la plupart des races animales, à condition d'injecter une dose suffisante de virus.

Ces vaccines généralisées sont caractérisées par l'apparition de pustules sur les muqueuses, en particulier la langue, l'œsophage, le larynx, souvent au pourtour des orifices buccal et anal et sur la peau, particulièrement au niveau de zones où l'épiderme a été irrité, par exemple par rasage ou épilage.

L'emploi du neuro-vaccin en place du dermo-vaccin a abouti, de même, à l'obtention, surtout chez le lapin de vaccines généralisées.

CAMUS avait montré que la dose seuil de dermo-vaccin à injecter dans la veine du lapin pour déterminer une vaccine généralisée, paraissait être de cinq centigrammes par kilogramme de poids d'animal ; soit un décigramme pour un animal de deux kilogrammes.

Pour le neuro-vaccin, la dose seuil paraissait pouvoir être fixée à cinq milligrammes par kilogramme de poids (soit un centigramme pour un lapin de deux kilogrammes).

Il était à noter que, dans le cas du neuro-vaccin, les pustules cutanées sur la zone préalablement épilée paraissaient être moins nombreuses que dans le cas du dermo-vaccin et que souvent l'animal succombait à cette infection, alors qu'en règle il survivait à une vaccine généralisée d'origine dermo-vaccinale.

MM. GASTINEL et FASQUELLE (7) ont montré qu'avec le virus cultivé sur allantoïde d'œuf de poule, on obtient des vaccines généralisées, avec des doses moindres de matériel virulent qu'avec le dermo-vaccin ; ils en ont conclu que : « le vaccin de culture allantoïdienne, dans son comportement à l'égard de la vaccine généralisée, peut être rapproché du neuro-vaccin » et que « le passage dans l'œuf incubé, paraît conférer au virus vaccinal une propension à la généralisation ».

Nous avons pensé qu'il serait intéressant d'étudier l'effet de l'extrait testiculaire sur l'obtention de vaccines généralisées.

Les deux séries d'expériences suivantes résument nos recherches à cet égard.

1) Extrait testiculaire injecté par la voie intraveineuse en même temps que du dermo ou du neuro-vaccin.

Lapin 81 du 20 octobre 1943 :

Inoculation de cinq centigrammes par kilogramme de poids d'animal de vaccin de génisse dans la veine marginale de l'oreille, ce vaccin étant dilué dans un demi centimètre cube d'extrait testiculaire de taureau.

Le 25 octobre, on note sur la plaque préalablement épilée, un semis de papules érodées légèrement infiltrées qui s'ulcèrent ultérieurement.

Le lapin guérit.

Lapin 99 du 15 novembre 1943 :

Injection intraveineuse de cinq milligrammes par kilogramme de poids de neuro-vaccin dilué dans un demi centimètre cube d'extrait testiculaire de taureau.

Le 21 novembre apparition d'une vaccine généralisée, caractérisée par l'apparition de papules très nombreuses sur le flanc préalablement épilé et de quelques éléments vaccinaux sur la langue.

Les jours suivants les papules se transforment en vesico-pustules.

Le 30 novembre, le lapin meurt très amaigri. L'autopsie permet de constater de très nombreuses pustules sur l'œsophage.

Il semble donc que *l'adjonction d'extrait testiculaire au dermo-vaccin injecté par la voie intra-veineuse donne une généralisation sensiblement plus marquée qu'avec les mêmes doses de dermo-vaccin intraveineux seul.*

D'autre part, que *l'effet de l'extrait testiculaire mélangé au neuro-vaccin inoculé par voie intraveineuse soit de déterminer l'apparition d'un plus grand nombre d'éléments vaccinaux d'abord intradermiques puis s'ulcérant ultérieurement.*

2) Extrait testiculaire introduit par voie intradermique, alors que le neuro-vaccin ou le dermo-vaccin sont injectés dans les veines.

Lapin 62 du 19 mai 1943 :

Il reçoit par voie intraveineuse dix centigrammes par kilogramme animal de dermo-vaccin. Deux plaques épilées et rasées reçoivent : la droite quatre injections d'extrait testiculaire, la gauche quatre injections d'eau salée.

Les jours suivants, on note que les plaies dues au rasage restent suintantes du côté de l'injection de l'extrait testiculaire, tandis qu'elles sont sèches du côté opposé.

Le 24 mai quelques lésions ulcérées sont nettement visibles du côté où l'extrait testiculaire a été injecté, tandis que la plage témoin présente quelques nodosités enchâssées dans le derme.

Le 26 mai les pustules ont augmentées d'étendue du côté de l'extrait testiculaire, du côté opposé les nodosités ont disparu.

Le lapin guérit.

Lapin 56 du 27 septembre 1943.

Il reçoit une injection intraveineuse de un décigramme par kilogramme de poids d'animal de neuro-vaccin, soit une dose considérable, égale à vingt fois la dose seuil.

Deux plages préalablement rasées reçoivent : à droite, trois injections intradermiques d'eau salée, à gauche, trois injections intradermiques d'extrait testiculaire.

Le 30 septembre, apparition à gauche d'un semis de papules rosées, rien à droite.

Le 4 octobre, le semis de granulations est très riche et très net, chacune des papules n'a pas augmenté de volume, trois à quatre seulement s'accompagnent d'une ulcération croûteuse superficielle ; pour les autres, on a l'impression d'un semis de petits grains de plomb.

Du côté droit on ne note que trois ou quatre granulations petites sous épidermiques.

L'animal meurt le 6 octobre : on note d'assez nombreuses pustules ulcérées sur la peau à gauche, rien à droite.

L'autopsie révèle la présence de quelques lésions vaccinales, sur la langue, l'arrière pharynx, la région glottique et tout le long de l'œsophage.

Lapin 82 du 20 octobre 1943 :

Inoculation intraveineuse de dix centigrammes par kilogramme de poids d'animal de neuro-vaccin.

Sur le flanc gauche épilé, injection intradermique d'extrait testiculaire. Sur le flanc droit, injection intradermique de sérum physiologique.

Le 25 octobre, semis de papules infiltrées sur le flanc gauche, une dizaine de papules sur le flanc droit.

Le 27 octobre les lésions, du côté qui a reçu de l'extrait testiculaire sont plus larges que celles du côté opposé.

Le 28 octobre très amaigri, le lapin crève avec de nombreuses lésions buccales et linguales.

De ces expériences, il semble que l'on puisse conclure que *l'injection d'extrait testiculaire, dans le derme de lapins ayant reçu une injection intraveineuse de dermo-vaccin ou de neuro-vaccin, ne modifie pas sensiblement l'évolution de la vaccine généralisée*, qui reste bénigne dans le cas du dermo-vaccin, et mortelle dans le cas du neuro-vaccin, mais que localement, cette injection intradermique d'extrait testiculaire, crée un véritable point d'appel pour les éléments vaccinaux.

III. — ORCHITE VACCINALE ET EXTRAIT TESTICULAIRE

L'étude des rapports entre l'extrait testiculaire et le virus vaccinal de provenance testiculaire (ou *testi-vaccin*) pose deux questions :

1° La première peut être ainsi formulée : certains résultats discordants observés au cours d'expériences dans lesquelles était utilisé le vaccin de culture testiculaire, ne trouveraient-ils pas leur explication dans la plus ou moins grande richesse en facteur diffusant que contiendraient ces testiculo-vaccins ?

2° Les caractères spéciaux et bien connus des lésions vaccinales déterminées par le testiculo-vaccin ne seraient-ils pas sous la dépendance de l'extrait testiculaire contenu dans ce dernier ?

Nous nous proposons d'envisager successivement le double aspect de ce problème.

1° Les résultats discordants notés au cours de recherches faisant intervenir le testiculo-vaccin sont de deux ordres : les uns se rapportent à des essais de diffusion du testiculo-vaccin par adjonction d'extrait testiculaire ; les autres ont trait à des recherches entreprises pour tester la virulence de diverses souches de virus testiculaire.

En ce qui concerne les essais de diffusion du testiculo-vaccin par l'extrait testiculaire, dès 1929, DURAN-REYNALS (2) signale que l'extrait d'un testicule normal injecté dans le derme n'exerce pas d'action diffusante sur un virus vaccinal quand celui-ci provient d'une orchite vaccinale, alors que le même extrait testiculaire détermine une diffusion considérable des lésions provoquées par un neuro-vaccin également injecté dans le derme.

Quant aux résultats discordants en rapport avec les recherches faites dans le but de tester la virulence de diverses souches de virus testiculaire, de nombreux auteurs les ont signalés (9). Nous-mêmes, au cours de passages successifs du virus testiculaire de la souche « Ro-

binson » avons été frappés à plusieurs reprises des résultats en apparence paradoxaux que nous avons obtenus ; ainsi, au cours de passages effectués au cours des mois de juillet et août 1941, nous avons remarqué des différences considérables dans l'aspect des lésions déterminées en injection intradermique, par le virus testiculaire des passages : 203, 204, 205, 207 et 209.

Nous avons attribué la différence d'aspect des lésions à des conditions individuelles : animaux plus ou moins âgés, testicules plus ou moins développés, voire atrophiés.

Nous avons repris l'étude de cette question au cours de nos recherches sur les effets diffusants de l'extrait testiculaire.

Les expériences suivantes ont été réalisées :

Le lapin numéro 95 reçoit le 12 avril 1944, du côté droit trois intradermos : la première de 1/4 de centimètre cube de dermo-vaccin au dixième ; la seconde de 1/4 de centimètre cube de neuro-vaccin au dixième, et la troisième de la même quantité de testi-vaccin au dixième.

Du côté droit ce lapin reçoit les mêmes doses des trois précédents vaccins mais dilués dans de l'extrait testiculaire extemporanément.

On remarque immédiatement que les injections intradermiques contenant de l'extrait testiculaire s'affaissent tandis que les autres restent saillantes.

Au bout de cinq jours, les lésions vaccinales, chacune avec leurs caractères particuliers sont plus larges du côté où a été injecté l'extrait testiculaire.

Dans cette expérience, le testi-vaccin s'est donc comporté comme le dermo-vaccin ou le neuro-vaccin et a été capable d'être diffusé par l'extrait testiculaire.

Le lapin numéro 84 reçoit le même jour des injections intradermiques absolument semblables des trois mêmes vaccins, mais à la dilution du centième.

Des résultats absolument symétriques sont observés.

Là encore, le testi-vaccin s'est montré capable d'être diffusé par l'extrait testiculaire.

Remarquons que, dans ces deux cas, le testi-vaccin employé est le même et provient du broyage du testicule du lapin « L » (orchite du 9^e jour).

Au contraire le lapin 89 recevant le 25 avril 1944 à droite des injections de dermo-vaccin, neuro-vaccin et testi-vaccin au centième et à gauche les mêmes injections associées à de l'extrait testiculaire, présente cinq jours après des lésions diffusées par rapport aux lésions témoins, pour le dermo et le neuro-vaccin associé à l'extrait testiculaire et des lésions absolument semblables et toutes deux très réduites pour le testi-vaccin seul et pour le testi-vaccin associé à l'extrait testiculaire.

Ajoutons que ce testiculo-vaccin employé provient du testicule du lapin 71 (orchite du cinquième jour, mais testicule peu enflammé, ce que nous expliquons par le fait que ce lapin avait été antérieurement inoculé de syphilis dans le même testicule).

Enfin, le protocole du lapin numéro 90 est le suivant: Il reçoit le 5 mai 1944 sur deux plages antérieures une injection intradermique de testi-vaccin à droite, à gauche une injection intradermique de testi-vaccin associé à de l'extrait testiculaire. Sur deux plages postérieures il reçoit: à droite l'extrait testiculaire plus encre de chine, à gauche testi-vaccin plus encre de chine.

Immédiatement on remarque que les papules des injections intradermiques de testi-vaccin seul et de testi-vaccin associé à de l'extrait testiculaire s'affaissent aussitôt et que l'encre de chine diffuse aussi bien avec le testi-vaccin qu'avec l'extrait testiculaire.

Au bout de cinq jours on observe pour le testi-vaccin seul et pour le testi-vaccin associé à l'extrait testiculaire ainsi que pour le testi-vaccin associé à l'encre de chine, trois grosses lésions vaccinales, absolument comparables.

Notons que le testi-vaccin employé provenait du testicule du lapin N° 85 (formidable orchite du quatrième jour caractérisée par un testicule énorme extrêmement enflammé, turgescant, auquel était associé un œdème scrotal très important.)

Telles sont les quatre expériences dont nous devons essayer d'expliquer les résultats en apparence discordants, à savoir :

1. — Que chez les lapins 95 et 84, le testi-vaccin a déterminé une lésion intradermique relativement importante qui a subi une diffusion par adjonction d'extrait testiculaire.

2. — Que chez le lapin 89 le testi-vaccin a déterminé une lésion intradermique minime que n'a pu augmenter l'extrait testiculaire.

3. — Que chez le lapin 90 le testi-vaccin a déterminé une très grosse lésion que n'a pas augmenté l'extrait testiculaire.

Nous croyons que les explications suivantes peuvent être données :

A. — Pour le lapin 89 la lésion minime est due au fait que le testi-vaccin employé provenait d'un testicule sclérosé par une syphilis expérimentale antérieure. Ce testicule contenait donc très peu de virus vaccinal et le fait d'adjoindre de l'extrait testiculaire n'a pu déterminer une diffusion de la lésion.

B. — Pour les différences observées entre les lapins 95 et 84 d'une part (où le testi-vacin est capable d'être diffusé) et le lapin 90 d'autre part (où le testi-vaccin ne peut être diffusé) nous croyons qu'elles s'expliquent par la date à laquelle est prélevé le testicule atteint d'orchite vaccinale (9^e jour lapin 95 et 84, 4^e jour lapin 90) ; à notre avis, quand l'orchite est à son début la culture du virus est à son maximum et le facteur de diffusion persiste dans le testicule ; quand au contraire l'orchite arrive à une phase plus tardive, le testicule est moins riche en virus et surtout l'inflammation a fait disparaître le facteur de diffusion ; par conséquent lorsque le testicule est prélevé au début de l'orchite, l'adjonction d'extrait testiculaire ne saurait augmenter la lésion déjà diffusée par l'action du facteur de diffusion contenu dans le testicule lui-même, tandis que lorsque le matériel provient d'un testicule depuis plus longtemps en évolution orchitique, l'extrait testiculaire surajouté garde toute son action sur le testi-virus dont le support testiculaire est, du fait de l'inflammation, dépourvu de facteur de diffusion.

Cette hypothèse nous paraît d'ailleurs confirmée par les expériences suivantes :

Le 19 mai 1944 le lapin numéro 21 reçoit dans chaque testicule un huitième de centimètre cube du testi-vaccin 20.

Le 24 mai, soit cinq jours après l'injection, le testicule droit est prélevé, il est énorme et furgescent.

Le 31 mai, soit douze jours après l'injection, le testicule gauche est prélevé à son tour, il est encore un peu gros, mais pèse la moitié du poids du testicule droit prélevé le 24 mai.

Ces deux testicules sont expertisés : 1) du point de vue richesse en virus et facteur de diffusion; 2) du point de vue antomo-pathologique.

1) Le lapin 86 reçoit deux injections intradermiques : à gauche du broyat du testicule du 24 mai associé à de l'encre de chine, à droite du broyat du testicule du 31 mai associé également à de l'encre de chine.

On note immédiatement une diffusion de l'encre de chine à gauche et non à droite. Au bout de cinq jours : à droite une petite lésion ecchymotique légèrement infiltrée, à gauche un gros placard infiltré de la dimension d'une pièce de cinq francs avec bourrelet et au centre une zone escharotique et hémorragique, autour de ce placard quelques papules érythémateuses de vaccine généralisée.

Ainsi il semble bien que, dans l'orchite du cinquième jour, se trouve présent le facteur, ce qui explique la diffusion immédiate de l'encre de chine et l'importance de la lésion vaccinale au cinquième jour ; tandis que dans l'orchite du douzième jour, le facteur de diffusion a disparu, ce qui fait comprendre la non diffusion de l'encre de chine immédiatement et la faible étendue de la lésion vaccinale.

2. — L'examen anatomo-pathologique pratiqué par M. DELARUE révèle que, le cinquième jour, au milieu d'une inflammation intense persistent des sections normales de tubes séminifères.

Tandis que le douzième jour l'ensemble du testicule est frappé de phénomènes de nécrobiose ; on reconnaît encore l'architecture générale de l'organe, mais il ne reste que quelques vestiges à peine perceptibles des éléments de la lignée séminale.

NOTE. — Dans une série d'expérience actuellement en cours, nous étudions comme l'a fait Duran-Reynals (34-39) la coexistence dans un testicule de lapin immun du facteur de diffusion et des anticorps virulicides pour le virus vaccinal.

Signalons seulement que pour mettre en évidence ces anticorps il faut prolonger longtemps le contact in-vitro du broyat testiculaire et du virus destiné à être inoculé à un animal neuf alors que pour tester le facteur de diffusion le mélange du broyat testiculaire et des particules à diffuser est toujours fait extemporanément juste avant le moment de l'injection.

Nous nous croyons donc autorisés à conclure que les résultats en apparence discordants déterminés par l'injection intradermique de produits virulents représentés par des broyats d'orchites vaccinales peuvent être expliqués par la plus ou moins grande richesse de ces broyats en virus d'une part et en extrait diffusant d'autre part, ces deux éléments pouvant varier selon l'état antérieur du testicule et le cours évolutif de l'orchite.

2° Une question, dès lors, pourrait se poser :

L'aspect hémorragique et nécrotique classiquement décrit comme caractéristique du testi-vaccin ne serait-il pas lié à l'action associée de l'extrait testiculaire ?

Nous avons en effet observé ce caractère, beaucoup plus nettement dans l'orchite de cinq jours que dans l'orchite de douze jours.

Etant donné qu'un neuro-vaccin ou un allantoïdo-vaccin déterminent le même aspect hémorragique et nécrotique, on pourrait se demander si le substratum « cerveau » ou le substratum « allantoïde » ne joueraient pas alors un rôle analogue à celui de l'extrait testiculaire.

A la vérité cette hypothèse ne paraît pas confirmée par les faits ; dès 1924 BURNET et CONSEIL (8) avaient essayé en mélangeant *in-vitro* un virus recueilli sur la peau de la génisse à un broyat de substance cérébrale et en inoculant le complexe, de reproduire de telles lésions hémorragiques et nécrotiques ; ils n'y avaient pas réussi. Nous mêmes, avons tenté de conférer ce caractère hémorragique à un dermo-vaccin en l'associant à un broyat de membrane chorio-allantoïde sans plus de succès. Et nous avons rapporté précédemment que l'adjonction d'extrait testiculaire à un dermo-virus, s'il réussit à déterminer des lésions plus étendues, ne modifie en rien l'aspect de celles-ci.

Faudrait-il alors penser que la différence des lésions déterminées par l'orchite du cinquième ou du douzième jour est simplement due à une plus ou moins grande richesse en virus à ces deux dates ? Cette hypothèse non

plus ne semble pas pouvoir être admise puisqu'un vaccin de culture épidermique aussi concentré en virus soit-il, ne paraît jamais capable de déterminer de telles lésions hémorragiques.

Nous en revenons donc à l'hypothèse d'une différence d'affinité entre virus épidermique, d'une part, testiculovirus, neuro-virus ou allantoïdo-virus d'autre part, hypothèse comme nous l'avons déjà dit, formulée par M. LEVADITI et adoptée par de nombreux auteurs, BURNET et CONSEIL en particulier. Selon l'expression de ALDERSHOFF, PONDMAHNN et POTT (8), tout se passe comme si « la réaction hémorragique était une propriété spécifique de tous les virus vaccinaux cultivés ailleurs que sur l'épiderme, l'absence de réaction hémorragique étant probablement une propriété caractéristique du dermo-virus ».

Au terme de cette étude sur les rapports entre l'extrait testiculaire et le virus de culture testiculaire, nous dirons que si le facteur de diffusion testiculaire décrit par DURAN-REYNALS rend compte d'un certain nombre de faits depuis longtemps signalés concernant le testiculovaccin il laisse, par contre dans l'ombre, toute une face du problème, celle qui a trait aux affinités particulières du testiculovirus pour les couches profondes du revêtement cutané, dont l'explication pourrait vraisemblablement être cherchée dans un tout autre sens, celui d'une modification légère de la constitution stéréo-chimique du virus vaccinal, par exemple.

IV. — ALLERGIE VACCINALE.

Nous venons de voir quels étaient les effets de l'extrait testiculaire sur le virus vaccinal chez des animaux neufs.

Il nous a paru intéressant d'étudier comparativement l'effet de l'extrait testiculaire sur le virus vaccinal chez

des animaux antérieurement vaccinés, autrement dit d'étudier l'effet de l'extrait testiculaire sur les réactions allergiques (10).

Voici quelques-uns des protocoles des animaux ayant servis à ces expériences :

Lapin 45 du 7 juin 1943 :

Prime inoculé le 20 janvier 1943.

On injecte en intradermique dans le tégument préalablement rasé, d'un côté du neuro-vaccin, de l'autre côté du neuro-vaccin associé à de l'extrait testiculaire ; deux jours plus tard on note une petite papule rose à l'endroit du neuro-vaccin seul, rien au neuro-vaccin associé à de l'extrait testiculaire.

Lapin 68 du 15 octobre 1943 :

Primo inoculé le 20 janvier 1943, même protocole.
d'injection que pour le lapin 45.

Aucune réponse, ni au neuro-vaccin seul, ni au neuro-vaccin plus extrait testiculaire.

Lapin 73 du 15 novembre 1943.

Primo-vacciné un mois auparavant.

On injecte du côté droit du dermo-vaccin dans le derm.e, du côté gauche du dermo-vaccin associé à de l'extrait testiculaire.

Réponse négative des des deux côtés.

Lapin 81 du 15 novembre 1943 :

Primo-vacciné un mois auparavant.

Même protocole.

Réponse positive sous la forme d'une papule allergique du côté où le virus est seul, négative du côté où il y a association du virus à l'extrait testiculaire.

Lapin « K » du 8 mars 1944 :

Primo-vacciné un mois auparavant.

Il reçoit du côté droit en intradermique du neuro-vaccin associé à de l'extrait testiculaire, du côté gauche, du neuro-vaccin seul.

Deux jours plus tard on obtient une réaction positive des deux côtés, mais la réaction avec le neuro-vaccin seul est beaucoup plus nette qu'avec le neuro-vaccin associé à l'extrait testiculaire.

Lapin « R » du 17 avril 1944 :

Même protocole.

Les lésions allergiques, contrairement aux expériences précédentes sont beaucoup plus nettes et plus larges avec l'extrait testiculaire associé au virus que sans l'extrait testiculaire.

En résumé, sur les six lapins précédents, nous avons observé : deux fois un résultat totalement négatif des deux côtés ; trois fois, une diminution de l'intensité de la réaction allergique sous l'influence de l'extrait testicu-

laire ; enfin, une fois une augmentation de la réaction allergique par l'extrait testiculaire.

L'interprétation des faits nous paraît pouvoir être la suivante :

1. — Les résultats d'apparence totalement négative, sont d'observation fréquente chez le lapin en matière de réaction allergique vaccinale : soit que la lecture soit rendue difficile du fait de la texture de la peau du lapin, soit qu'entrent en jeu les variations de susceptibilité individuelle, qui font que souvent des animaux ayant reçu la même dose de virus, se sensibilisent plus ou moins facilement.

II. — Quant à la constatation, tantôt d'une augmentation, tantôt d'une diminution de la réaction allergique sous l'influence de l'extrait testiculaire, nous aurions tendance à l'attribuer à la même variation individuelle de réactivité : nous attribuerions l'augmentation de la réaction allergique au fait que l'animal, étant fortement sensibilisé, la diffusion de l'antigène sur une large zone sensible a eu pour effet l'extension en surface de la réponse positive. En sens inverse, nous dirions volontiers, que la diminution de la réaction allergique chez certains animaux, est due au fait qu'ils étaient peu sensibilisés et que par suite, en diffusant l'antigène, l'extrait testiculaire a eu pour effet de l'amener à une concentration insuffisante pour donner la réaction allergique. À l'appui de cette hypothèse nous citerons l'expérience suivante :

Le lapin 49, primo-vacciné le 10 mars 1943, reçoit le 18 juin 1943 :

Du côté gauche une injection intradermique de neuro-vaccin dilué au dixième, du côté droit une injection intradermique de neuro-vaccin associé à de l'extrait testiculaire. On injecte en même temps du côté gauche en intradermique de l'encre de chine diluée au centième et du côté droit la même dilution d'encre de chine dans de l'extrait testiculaire.

On note immédiatement que la papule de neuro-vaccin associé à de l'extrait testiculaire et la papule d'encre de chine associé au même extrait s'affaissent immédiatement, tandis que la papule d'encre de chine seule et de virus seul persistent.

Il s'en suit que la coloration de la peau au niveau de l'injection d'encre de chine associée à l'extrait testiculaire diminue beaucoup d'intensité, alors que la zone de peau correspondant à l'encre de chine seule qui n'a pas diffusée reste colorée fortement en noir.

Le 21 juin au neuro-vaccin seul une papule infiltrée, rose, de la largeur d'une pièce de deux francs est notée, tandis qu'au neuro-vaccin associé à de l'extrait testiculaire on note juste un petit point rose à peine infiltré. D'autre part, du côté où l'encre de chine est seule on voit encore une coloration noire dans une zone peu étendue, tandis que du côté où l'encre de chine diluée au centième a été mêlée à de l'extrait testiculaire, on ne note plus rien.

Ainsi donc, s'il est facile de se rendre compte par le simple examen de cet animal, qu'il existe pour l'encre de chine une concentration limite, au-delà de laquelle la diffusion, au lieu d'augmenter la surface colorée, fait disparaître la coloration, il est facile d'admettre de même, que l'extrait testiculaire fait disparaître la réponse allergique, lorsqu'en diffusant l'antigène, il modifie la concentration relative de celui-ci en le ramenant en deça du taux de la concentration nécessaire pour donner une réaction allergique visible.

CHAPITRE III

EXTRAIT TESTICULAIRE ET TUBERCULOSE

L'étude du facteur de diffusion dans la tuberculose s'est avérée au moins aussi intéressante que dans la vaccine.

Trois séries d'expériences ont pu être réalisées sur ce sujet :

- 1° Diffusion du bacille de Koch sur des animaux
- 2° Diffusion du bacille de Koch chez des animaux neufs.
antérieurement tuberculisés.
- 3° Diffusion de la tuberculine chez des sujets tuberculisés.

I. — DIFFUSION DU BACILLE DE KOCH HUMAIN CHEZ LES ANIMAUX NEUFS.

C'est en somme l'étude de l'effet du facteur sur le chancre de primo-inoculation.

De nos expériences, nous rapporterons les protocoles suivants :

A) Certains cobayes reçurent de manière symétrique une injection à droite de bacille de Koch avec facteur de diffusion, représenté par de l'extrait testiculaire de taureau, à gauche du bacille de Koch seul.

Cobaye N° 10 du 17 janvier 1944 :

Il reçoit un dixième de milligramme de bacille de Koch en solution saline physiologique contenant du facteur de diffusion, en injection intradermique, sur le flanc droit.

Sur le flanc gauche, d'une manière symétrique il reçoit une injection intradermique de la même dose de bacille de Koch en solution dans de l'eau salée.

Le 26 janvier, on constate des deux côtés une petite lésion ulcéreuse, peut-être un peu plus large du côté droit.

Le 31 janvier, les lésions peuvent être ainsi décrites : du côté droit, lésion escharotique ulcéreuse étendue, selon un grand axe perpendiculaire à celui du corps, large d'un travers de doigt et s'étendant d'un centimètre environ de la ligne dorsale médiane, jusqu'à 4 centimètres de la ligne ventrale médiane. Du côté gauche, une petite lésion ulcéreuse, limitée, arrondie, d'environ un centimètre de diamètre.

L'animal crève le 10 février 1944 ; à l'autopsie on note des granulations sur la rate, rien sur les autres organes ; les ganglions tributaires pariétaux à droite sont plus gros et plus osseux que les ganglions correspondants à gauche.

Cobaye N° 11 du 17 janvier 1944 :

Même technique et même posologie.

On note de même l'évolution d'une très grosse lésion escharotique de 5 centimètres de long sur 2 centimètres de large du côté de l'injection intradermique qui contenait du facteur de diffusion, et un petit ulcère limité, cinq fois plus petit, du côté opposé.

L'animal crève le 19 février 1944.

Sur la peau, on retrouve la trace des lésions superficielles droite et gauche, sous forme de plaques ecchymotiques brunâtres ; gros ganglions dans les régions inguinales bilatérales. ganglions axillaires volumineux. Quelques lésions sur la rate. Un nodule pulmonaire.

Cobaye N° 12 du 17 janvier 1944 :

Même technique, même posologie, mêmes résultats que les précédents.

Mort le 25 février : gros ganglion du côté droit, ganglion moins important du côté gauche ; quatre nodules pulmonaires ; ganglions axillaires ; quelques lésions de la rate. Rien au foie.

B) D'autres cobayes reçurent une seule injection intradermique de bacille de Koch associé au facteur testiculaire de taureau.

Cobaye N° 13 du 17 janvier 1944 :

Injection intra-dermique sur le flanc gauche de un dixième de milligramme de bacille de Koch en suspension dans une solution saline contenant du facteur.

Le 31 janvier grosse ulcération escharotique d'environ six centimètres de diamètre. (Voir planche n° 2).

Le cobaye crève le 8 février de tuberculose généralisée.

Cobaye N° 14 du 17 janvier 1944 :

Même protocole ; lésion escharotique plus large encore que la précédente.

Mort le 25 février. Tuberculose généralisée.

C) Enfin une dernière série de cobayes sert de témoin.

Cobaye N° 15 du 17 janvier 1944 :

Injection intra-dermique sur le flanc gauche de un dixième de milligramme de bacilles de Koch suspendus dans de l'eau salée.

26 janvier petite lésion indurée.

31 janvier, ulcère n'atteignant pas un centimètre de diamètre. (Voir planche n° 2).

18 février, l'ulcération persiste de même étendue. Mort le 25 février de tuberculose généralisée.

Cobaye N° 16 du 17 janvier 1944 :

Même technique, même posologie, mêmes résultats.

Mort le 6 mars de tuberculose du foie et de la rate.

D) Nous avons de même fait des expériences chez le lapin.

Le 31 janvier 1944 le lapin 71 reçoit du côté droit sur son flanc rasé une injection intradermique de un milligramme de bacille de Koch humain en suspension dans du facteur de diffusion de testicule de taureau ; du côté gauche, une injection intradermique de un milligramme de B. K. dans de l'eau salée.

Le 4 février on remarque du côté droit un petit point ecchymotique au lieu de l'injection et du côté gauche un petit cratère.

Le 9 février le lapin est malade et ne mange plus, on note à droite un érythème de la grandeur d'une pièce de un franc centré par un cratère ; à gauche, un érythème comparable à une pièce de 0 fr. 50 centré également par un petit cratère.

Le 18 février le lapin va mieux, des deux côtés est apparue autour de la zone érythémateuse notée précédemment, une nouvelle aréole rouge qui est plus large à droite.

Le 26 février, une eschare s'est formée des deux côtés, qui tombe, les lésions se présentent alors de la manière suivante : à droite, ulcère à limites nettes, à rebord violacé de 4 centimètres de large ; à gauche, ulcération assez analogue mais beaucoup plus limitée, d'un centimètre de diamètre au maximum (Voir planche n° 1, fig. 2).

L'animal guérit et cicatrise ses deux ulcérations en trois mois.

Ces expériences sont très comparables à celles rapportées par THOMAS et DURAN-REYNALS (11,35) dont nous confirmons ainsi les résultats.

Les conclusions que l'on peut en tirer nous paraissent être les suivantes :

I. — Le facteur de diffusion, inoculé en injection intradermique, chez le lapin ou le cobaye, en association avec le bacille de Koch, détermine une lésion qui apparaît dans les mêmes délais que celle produite par l'injection de la même dose de bacille de Koch seul. *Mais cette lésion présente une extension beaucoup plus grande.* Cette différence d'aspect, déjà notable si l'on compare notre deuxième et troisième série de cobayes, apparaît encore plus manifeste chez les cobayes N^{os} 10, 11 et 12 et chez le lapin 71 qui ont reçu de telles injections comparativement dans l'un et l'autre flanc : il y a nette discordance entre la *lésion escharotique du bacille de Koch associé au facteur de diffusion*, et la *lésion du bacille de Koch seul*.

A noter que les ganglions tributaires semblent plus volumineux et plus nombreux du côté où le bacille de Koch a été associé au facteur de diffusion (19).

2. — L'adjonction à une certaine dose de bacille de Koch (du moins dans la souche que nous avons utilisée) de facteur de diffusion, *ne paraît déterminer aucune modification nette dans l'intensité ou la rapidité de l'évolution de la tuberculose généralisée.*

II. — DU ROLE DU FACTEUR DE DIFFUSION DANS LES SURINFECTIONS EXPERIMENTALES.

Nous savons que lorsque l'on réinjecte du bacille de Koch à un animal précédemment tuberculisé, on constate que l'animal résiste parfaitement à cette seconde inoculation et ne fait qu'un phénomène local appelé *phénomène de Koch*.

Les expériences qui suivent montrent l'action du facteur de diffusion sur un tel phénomène.

D'un lot de cobayes tuberculisés le 27 novembre 1943 nous extrayons les protocoles qui suivent :

Chaque cobaye avait reçu, en injection sous-cutanée, une dose de un dixième de milligramme de bacilles de Koch humain, d'une souche peu virulente (souche Brocard).

Au bout d'un mois, ils présentent au point d'inoculation une très légère induration avec réaction ganglionnaire minime sur le territoire lymphatique correspondant.

Le 17 janvier 1943, ils reçoivent de nouveau sur le flanc gauche une injection intradermique de un dixième de milligramme de bacilles de Koch suspendus dans du facteur de diffusion provenant de testicule de taureau, et sur le flanc droit une injection intradermique de la même dose de B. K. en suspension dans de l'eau salée.

Le 22 janvier : le cobaye n° 3 présente sur le flanc droit et sur le flanc gauche un petit nodule symétrique ; les cobayes n°s 1, 2 et 7 une petite ulcération sur chacun des deux flancs.

Le 31 janvier ces quatre cobayes présentent à gauche une grande eschare à grand axe perpendiculaire à l'axe du corps, à droite une petite ulcération de un demi centimètre de diamètre.

Le 18 février, à gauche l'eschare se limite et se sèche, tandis qu'à droite l'ulcération se cicatrise progressivement.

Le 21 février le cobaye n° 1 crève, l'autopsie montre la présence de ganglions bilatéraux caséux, mais pas de lésions viscérales.

Les trois autres cobayes laissent voir encore à gauche une eschare étendue, tandis qu'à droite la cicatrisation est terminée.

Le 29 février le cobaye n° 2 crève, présentant des ganglions inguinaux bilatéraux surtout du côté gauche où ils sont volumineux ; quelques nodules sur la rate, rien au poumon.

Le 19 mai, les cobayes n°s 3 et 7 sont sacrifiés : on ne voit pratiquement plus rien du côté droit, tandis qu'il subsiste une très étroite eschare linéaire du côté gauche. Ces deux cobayes présentent des lésions tuberculeuses sur la rate, le poumon et le foie.

En résumé, nous constatons :

I. — Que les quatre cobayes cités, ont présenté du côté où a été fait l'injection de bacilles de Koch seuls, un phénomène de Koch, atypique par sa lenteur d'évolution. Nous croyons que ce fait est attribuable à la très faible intensité de la primo inoculation.

II. — Que du côté où l'animal reçoit du bacille de Koch associé au facteur, apparaît dans les mêmes délais, une réaction d'abord semblable du point de vue morphologique, mais qui s'en sépare bien vite par l'extension très considérable du processus ulcéreux.

III. — Que l'évolution de la cicatrisation est bien différente du côté où a été injecté le bacille tuberculeux

seul où elle se fait rapidement ; tandis qu'elle est très lente du côté où du facteur de diffusion a été ajouté au bacille de Koch.

Il semble donc que l'on puisse tirer de ces expériences deux conclusions :

A. — *La première est que l'adjonction de facteur de diffusion à des bacilles de Koch lors d'une réinoculation, ne modifie en rien la résistance générale de l'animal à cette réinfection, ceci en raison de la survie de ces animaux par rapport aux témoins.*

B. — *La seconde conclusion est que seul l'aspect du phénomène local est modifié : il ne s'agit plus du phénomène de Koch typique caractérisé par une réaction locale manifestement très limitée, mais d'une lésion escharotique très étendue.*

On pourrait même se demander à première vue, si l'intensité de cette réaction locale, ne pourrait pas être interprétée à la manière d'un phénomène d'hyperergie, comme si l'animal se trouvait dans un état d'excessive sensibilisation par l'adjonction de facteur exallant, peut-être, la réactivité du système nerveux.

Une telle hypothèse ne peut être retenue, puisque les animaux primo-inoculés, avec du bacille de Koch, associé au facteur de diffusion, peuvent offrir des lésions étendues et escharotiques secondairement, mais dans les délais normaux des primo-infections.

Chez les animaux réinfectés, il faut penser que le facteur, *assurant la diffusion des bacilles de la seconde injection sur une aire cutanée de dimension plus ou moins grande, provoque sur toute cette surface, des lésions escharotiques, dans les délais rapides caractéristiques du phénomène de Koch, exactement comme si on pratiquait simultanément des séries d'injections intradermiques en des points très voisins.* C'est au fond une sorte d'ensemencement sur une aire étendue qui est ainsi effectué et, dès lors, il n'est pas surprenant que sur tout ce territoire, les bacilles et leur antigène créent sur un

terrain préparé le phénomène de sensibilisation, qui est l'un des deux caractères du phénomène de Koch, l'autre caractère étant, on le sait, la résistance à l'infection de nouvel apport. Celle-ci n'est nullement modifiée par le facteur de diffusion.

En bref, on met *ainsi en évidence et on dissocie, les deux éléments constitutifs du phénomène de Koch* : — l'élément cutané hâtif et escharotique aboutissant à la guérison et à la cicatrice ; cette réaction se fait sur une zone étendue, lorsque les bacilles réinjectés sont associés au facteur de diffusion.

— deuxièmement l'élément de résistance générale, qui ne subira, répétons-le, aucune modification du fait de cette association.

III. — DU RÔLE DU FACTEUR DE DIFFUSION DANS LES REACTIONS TUBERCULINIQUES.

Nous avons envisagé plus haut le rôle du facteur de diffusion dans le comportement du virus vaccinal utilisé dans l'exploration de l'état d'allergie : de même convenait-il de préciser par quelques expériences personnelles, la manière dont un tel facteur peut modifier les réponses allergiques à l'égard de la tuberculine

Nous avons été d'ailleurs précédés dans cette voie par des travaux d'auteurs étrangers (49), notamment THOMAS et DURAN-REYNALS (12) et MANGANOTTI (12).

Nos recherches ont portées à la fois chez l'homme et chez l'animal.

Le 31 janvier, un lot de cobayes ayant présentés deux mois et demi auparavant un chancre d'inoculation typique est exploré à la tuberculine.

De ce lot nous retiendrons les protocoles des cobayes N° 21, 22, 23 et 24.

Ils reçoivent du côté droit une injection intradermique d'un quart de centimètre cube de tuberculine au vingtième diluée dans du facteur de diffusion provenant de testicule de taureau, du côté gauche la même dose de tuberculine diluée dans de l'eau salée.

Le 2 février 1944 ces quatre cobayes présentent les réactions suivantes :

Du côté droit une papule rose à peine visible, du côté gauche, une papule rouge d'environ un centimètre de diamètre, caractéristique de la réaction tuberculinique.

Il semble donc que dans cette série d'expériences l'effet du facteur ait été de diminuer l'intensité de la réaction tuberculinique.

Deuxième série d'expériences :

Le 27 novembre 1943 un lot de cobayes reçoit une primo-inoculation de bacilles de Koch.

Le 28 février 1944 un certain nombre d'entre eux reçoivent en injection intradermique du côté droit un dixième de centimètre cube de tuberculine en dilution au vingtième dans de l'eau salée ; à gauche, la même dose de tuberculine dans du facteur de diffusion.

Le 29 février les cobayes présentent du côté du facteur une réaction infiltrée plus large, mais moins épaisse semblait-il que du côté où il n'y a pas eu de facteur de diffusion associé à la tuberculine.

Troisième série d'expériences :

Cinq cobayes tuberculisés sont explorés à la tuberculine de la manière suivante : du côté gauche, injection d'un centigramme de tuberculine diluée dans de l'eau salée. Du côté droit, même dose de tuberculine diluée dans du facteur de diffusion provenant de testicule de taureau.

Les cobayes n°s 50 et 51 qui avaient reçu une forte dose d'une souche très virulente et qui présentaient un gros chancre au troisième mois d'évolution, offrent une réaction beaucoup plus forte du côté tuberculine plus facteur (où l'on constate une véritable petite eschare) que du côté opposé où ils n'ont reçu que de la tuberculine seule (petite papule rosée).

Les trois autres cobayes, n°s 52, 53 et 54, qui avaient reçu une très faible dose de bacilles de Koch d'une souche peu virulente et en étaient à leur sixième mois d'évolution de leur tuberculose, ne donnent aucune réaction nette à la tuberculine ni d'un côté ni de l'autre. Ces trois cobayes sont sacrifiés, et on note sur chacun d'eux l'existence d'une infiltration de la rate avec quelques nodules pulmonaires.

Dans ces trois séries d'expériences il semble que nous-ayons abouti à des résultats discordants :

Dans la première série d'expériences, l'effet du facteur semble avoir été de diminuer l'intensité de la réaction tuberculinique.

Dans la seconde série, le facteur de diffusion paraît avoir déterminé une réaction plus large en surface, mais s'étendant moins en profondeur.

Enfin dans la troisième série, si trois cobayes n'ont pas répondu à l'injection de tuberculine ou de tuberculine plus facteur, deux, par contre, ont présenté une augmentation manifeste de l'intensité de la réaction tuberculinique sous l'influence du facteur de diffusion.

Il est certain que ces expériences sont encore trop peu nombreuses pour que nous puissions en donner une interprétation valable ; mais nous admettrions volontiers que ce qui joue un rôle essentiel dans la réaction tuberculinique et dans l'effet du facteur de diffusion, c'est, puisque tous les animaux ont été faits avec des doses comparables de tuberculine, l'intensité de la sensibilisation de l'animal. Si le sujet est peu sensibilisé, la diffusion d'une dose de tuberculine juste suffisante pour déterminer une réaction nette sur un territoire restreint, a pour effet d'amener cette tuberculine à une concentration insuffisante pour donner une réponse positive sur une zone plus large. Au contraire, si le sujet est fortement sensibilisé et si la quantité de tuberculine injectée est importante, l'effet du facteur de diffusion sera d'augmenter la surface de la réaction tuberculinique.

Cette hypothèse, nous avons essayé de la vérifier chez l'homme.

Chez un certain nombre d'individus pris au hasard, nous avons injecté en intradermique dans la région deltoïdienne du bras droit, un milligramme de tuberculine en dilution dans de l'eau salée ; dans la région deltoïdienne du bras gauche, la même dose de tuberculine en dilution dans du facteur de diffusion purifié, provenant d'extrait testiculaire de taureau.

Ici encore, nous avons abouti à des résultats en apparence discordants : tantôt la réaction de tuberculine associée au facteur était plus intense que la réaction à la tuberculine seule ; tantôt, au contraire, l'effet du facteur paraissait être de diminuer l'intensité de la réaction.

Mais en classant les deux catégories de faits et en précisant après coup l'anamnèse des sujets observés, nous avons reconnu que le facteur avait déterminé une diminution de la réaction tuberculinique, chez des sujets éloignés de toute poussée évolutive récente, tandis qu'au contraire les cas où la réaction paraissait très augmentée par le facteur, se rencontraient chez des sujets ayant présenté, peu de temps avant une atteinte manifeste de tuberculose en activité.

A titre d'exemple, nous citerons les trois observations suivantes. :

Monsieur L..., 60 ans, hospitalisé pour une insuffisance mitrale. A la radiographie, intégrité pulmonaire sauf quelques calcifications hilaires.

Au bras droit, injection intradermique de tuberculine, au bras gauche, injection de la même dose de tuberculine, diluée cette fois dans du facteur.

Le lendemain et le surlendemain, on observe du côté sans facteur une réaction rosée papuleuse typique avec légère induration, d'environ un centimètre de diamètre, tandis que du côté opposé on observe un simple petit point rose non induré.

Au huitième jour il n'y a plus trace de la réaction.

Monsieur P..., 48 ans, hospitalisé pour bronchite. Radioscopie pulmonaire normale. Deux injections intradermiques aux bras, selon le protocole du malade précédent.

Les jours suivants on note une papule typique du côté où la tuberculine a été injectée seule, rien du côté opposé.

Monsieur X..., 25 ans, hospitalisé pour pleurite ; à la radioscopie, disparition à la respiration du sinus coste-diaphragmatique droit. Mêmes injections intradermiques que précédemment.

Dès le lendemain, on observe du côté où la tuberculine a été injectée seule une papule érythémateuse de la grandeur d'une pièce de 0 fr. 50. Tandis que du côté où la tuberculine a été associée à du facteur on note une infiltration de la largeur d'une pièce de 5 francs.

Les jours suivants, la réaction à la tuberculine seule prend l'aspect phlycténoïde, tandis que du côté avec facteur tout en conservant la même étendue, la réaction devient ecchymotique, une seconde zone érythémateuse de teinte rosée entoure la zone ecchymotique ; ce n'est qu'au bout de trois semaines que la réaction disparaît, tandis qu'en dix jours tout est rentré dans l'ordre du côté que la tuberline était injectée seule.

Nos constatations sont confirmatives de celles de nos devanciers qui ont vu également des réactions tuberculiniques tantôt augmentées tantôt diminuées.

Les faits observés par eux comme par nous prêtent aux mêmes considérations qu'en ce qui concerne les recherches sur l'allergie vaccinale.

Nous ne reviendrons pas ici sur un débat qui retrouvera d'ailleurs sa place au chapitre consacré à l'étude générale des enseignements apportés par les facteurs de diffusion.

CHAPITRE IV

SOURCES DES FACTEURS DE DIFFUSION

1^{er} BROyat DE TESTICULE DE LAPIN.

Nous avons vu que la première constatation concernant le facteur de diffusion avait été faite par DURAN-REYNALS : ayant mis en contact un broyat de testicule normal de lapin avec du virus vaccinal, il constata que l'effet de l'adjonction de ce broyat de testicule au virus-vaccinal était de déterminer en injection intradermique des lésions beaucoup plus étendues en surface.

Nous avons précisé qu'ayant eu l'idée de remplacer le virus-vaccinal par de l'encre de chine il constata de même que l'adjonction à l'encre de chine de ce broyat de testicule de lapin déterminait une extension en surface de l'aire de peau teintée par l'encre de chine.

La conclusion admise dès ce moment par DURAN-REYNALS était que le broyat de testicule de lapin déterminait une diffusion des particules quelles qu'elles soient qui étaient injectées dans le derme en même temps que lui ; en effet, recommençant son expérience princeps avec des broyats de testicules d'autres lapins, il aboutit chaque fois au même résultat.

Nos expériences personnelles ont confirmées les observations de DURAN-REYNALS, toutefois, il nous semble que les testicules de certains lapins paraissent doués d'un faible pouvoir de diffusion, tandis que d'autres, au contraire, ont un effet diffuseur extrêmement marqué, témoin l'expérience suivante :

Lapin N° 18 du 10 avril 1943 :

Injection intradermique sur le flanc droit d'un quart de centimètre cube de broyat de testicule du lapin 25 associé à de l'encre de chine.

Injection symétrique sur le flanc gauche de broyat de testicule du lapin 12, ce broyat étant utilisé au centième.

On note une diffusion manifeste de l'encre de chine du côté gauche et rien du côté droit.

2° AUTRES BROYATS D'ORGANES DE LAPIN.

DURAN-REYNALS (2) a aussi recherché si des broyats d'autres organes, d'autres tissus, n'auraient pas un effet diffusant.

Ayant pratiqué des broyats d'organes de lapin tels que le rein, la peau, la surrénale, le sang entier, le sérum, la moelle osseuse, les ganglions, la rate, il les injecta en mélange avec des particules inertes ou du virus vaccinal, il constata que seuls les broyats de reins déterminaient la diffusion des particules au même titre que l'extrait testiculaire, mais à un degré moins intense ; que les broyats de muscles et de surrénale ne modifiaient pas la diffusion, que les extraits de rate et de sang paraissaient, au contraire, dans certains cas, la diminuer. Il est hors de doute, conclut-il, que seul l'extrait testiculaire a un effet diffusant très marqué même à des dilutions considérables.

DURAN-REYNALS s'assura alors que cet effet de diffusion n'était pas imputable à l'espèce dont on utilisait le testicule, en l'occurrence le lapin.

3° BROYATS DE TESTICULES D'AUTRES ANIMAUX.

Cet auteur employa un broyat de testicule de cobaye ; il fit des constatations tout à fait analogues.

Nous mêmes, sur une série de lapins ayant reçu comparativement d'un côté de l'extrait testiculaire de cobaye, de l'autre de l'extrait testiculaire de lapin, avons observé

de manière absolument symétrique une diffusion de l'encre de chine ou des lésions vaccinales.

Quant au testicule de taureau, qui, en raison de la masse plus importante qu'il fournit, est un matériel de choix pour des expériences nombreuses et suivies, il donne des résultats absolument comparables.

C'est le testicule de taureau qui a servi à la plus grande partie de nos expériences et a toujours donné d'excellents résultats ; à noter que nous avons employé indifféremment trois broyats de testicule provenant de trois taureaux différents, sans aucune variation apparente d'activité entre ces trois extraits.

Les constatations qui précèdent sont valables pour les testicules de tous les mammifères étudiés jusqu'à présent, l'homme inclus ; par contre, l'utilisation d'extrait de testicule de coq, de pigeon, de lézard, de grenouilles, de crapauds, se révèlent sans effet en injection intradermique dans la peau de mammifères (38.)

Cette richesse en facteur de diffusion des testicules (37) (tout au moins des mammifères), demandait une recherche complémentaire, ayant pour but de préciser si le facteur de diffusion ne siégeait pas plutôt dans les cellules germinatives que dans le tissu interstitiel (28). C'est MAC-CLEAN qui, le premier, a abordé cette étude ; il a eu recours à des extraits de spermatozoïdes par l'eau distillée. Les spermatozoïdes qu'il a étudiés provenaient soit de lapins (une pipette était introduite dans le canal déférent), soit de cobayes, soit de sujets humains (le sperme étant prélevé au cours d'opérations pour spermato-cèle).

Dans les trois cas, il a observé une diffusion manifeste des particules colorées ou virulentes par les extraits de spermatozoïdes.

Ces expériences demandent à être vérifiées, et nous verrons plus loin les déductions qui pourraient en être tirées.

Les hormones testiculaires de synthèse n'agissent pas ainsi que nous avons pu le vérifier.

4° BROYATS D'EMBRYONS DE POULET.

Il nous a paru d'autre part intéressant de rechercher si les broyats d'embryons entiers de poulet ou de membrane chorio-allantoïde n'auraient pas un effet diffuseur analogue à celui du broyat de testicule ; nous nous demandions en effet si la constatation de MM. GASTINEL et FASQUELLE (7), selon laquelle l'allantoïdo-vaccin paraissait susceptible d'une généralisation plus marquée que celle d'un dermo-vaccin ordinaire, n'était pas due à ce que cet allantoïdo-vaccin, contiendrait un facteur de diffusion. Entre autres expériences, citons celle-ci :

Le lapin n° 31 reçoit sur un flanc :

D'une part une injection de neuro-vaccin associé à de l'extrait embryonnaire total, d'autre part une injection de neuro-vaccin plus extrait de chorio-allantoïde, troisièmement une injection du même neuro-vaccin avec de l'extrait testiculaire, enfin une injection de neuro-vaccin seul.

Immédiatement on note un affaissement net de la papule seulement au niveau de l'intradermo de neuro-vaccin associé à l'extrait testiculaire.

Les jours suivants une diffusion manifeste de la lésion vaccinale apparaît au point d'injection neuro-vaccin plus facteur testiculaire, une diffusion moins nette, mais encore perceptible au point de l'injection neuro-vaccin associé à l'extrait embryonnaire total, enfin deux lésions normales aux injections d'une part de neuro-vaccin seul, et d'autre part de neuro-vaccin associé à l'extrait chorio-allantoïde.

Nous avons donc été amenés, ici, à conclure que si l'extrait embryonnaire total, est doué d'un pouvoir de diffusion, ce pouvoir paraît faible à côté de celui de l'extrait testiculaire, et que par suite, il ne saurait expliquer la plus grande propension à la généralisation de l'allantoïdo-vaccin.

DURAN-REYNALS et MAC-CLEAN (2) ont étendu l'étude du facteur de diffusion non plus à des extraits de tissus ou d'organes, mais à des extraits microbiens.

5° EXTRAITS DE GERMES PATHOGENES.

Ils ont ainsi reconnu que de très nombreux germes pathogènes étaient doués d'un facteur de diffusion ; c'est ainsi que le staphylocoque doré, le streptocoque hémolytique (33) produisent de grandes quantités de facteur de diffusion (23, 24) ; de même de nombreux germes anaérobies et particulièrement ceux du groupe produisant la gangrène gazeuse (34). Le bacille diphtérique contient en général peu de substance diffusante (24-34). Le bacille tuberculeux, le méningocoque, le bacille typhique, les rickettsia semblent dépourvus de facteur de diffusion (36-2).

Nos expériences sur ce sujet sont trop peu nombreuses pour qu'elles valent la peine d'être rapportées, mais nous verrons ultérieurement quelle importance de telles observations peuvent avoir sur la pathogénie de nombreuses infections dues à des germes envahissants.

6° EXTRAITS D'ANIMAUX VENIMEUX, VENINS.

Une autre source de facteur de diffusion est représentée par les extraits d'animaux venimeux ou par leurs venins (22).

Si des extraits totaux de fourmis, de papillons injectés par voie intradermique dans la peau du lapin ne provoquent aucune diffusion de l'encre de chine, par contre l'injection d'extraits d'insectes venimeux, tels que moustiques, guêpes ou abeilles, détermine une extension immédiate des particules colorées (2).

DURAN-REYNALS (13) a étudié le pouvoir diffuseur de venins de serpents, surtout du serpent à sonnettes et a montré qu'il était extrêmement important. Par contre le venin de crapauds lui aurait donné des résultats discordants.

Notre expérimentation personnelle sur ce point est très réduite et nous pouvons seulement dire qu'en utilisant des préparations commerciales, nous avons obtenu une diffusion de l'encre de chine par le venin de cobra, mais non par le venin de crapauds.

7° TISSUS NEOPLASIQUES.

Ce chapitre, vraisemblablement fort intéressant, a été ouvert par DURAN-REYNALS et STEWART (14) quand ils ont recherché la présence du facteur de diffusion dans les tissus néoplasiques.

Exigeant de nombreuses expériences de contrôle, cette étude est susceptible dans un prochain avenir de prendre un grand développement.

CHAPITRE V

ISOLEMENT ET PRÉPARATION DU FACTEUR DE DIFFUSION TESTICULAIRE

Nous venons de voir les différentes sources qui peuvent fournir du facteur de diffusion, mais il est bien évident que la plus importante demeure le testicule de mammifère et notamment (tout au moins dans les recherches faites jusqu'à présent), le testicule de lapin ou de taureau.

C'est en effet sur ces deux sortes de testicules que furent faites la plupart des expériences que nous avons rapportées dans ce travail comme celles que nous avons pratiquées.

Testicule de lapin — Broyat total.

La méthode de préparation la plus simple du facteur de diffusion, et qui, d'ailleurs, semble avoir été utilisée toujours au début, par tous les auteurs qui se sont intéressées à ce problème, est le broyage avec un pilon dans un mortier, d'un testicule de lapin.

Le scrotum étant préalablement rasé, on l'incise après asepsie de la région ; on ouvre la vaginale et on tombe sur l'albuginée ; on fait une ligature au catgut sur le cordon ; on énuclée alors le testicule et l'épididyme que l'on recueille dans une boîte de Pétri stérile. On ouvre alors l'albuginée ; à l'aide de ciseaux fins on découpe de petits fragments de testicule ; les morceaux placés dans un mortier, on assure aussi bien que possible le broyage du matériel dans cinq parties d'eau physiologique.

Si l'on prend alors un peu de cette grossière suspension et qu'on l'injecte avec de l'encre de chine ou du virus vaccinal en intradermique dans le flanc de l'animal, on obtient un des plus beaux exemples de diffusion.

Liquide de décantation.

Pour éviter que des fragments ne viennent obturer la lumière de l'aiguille servant à l'injection intradermique, on peut préalablement laisser déposer ces fragments au fond du tube et n'injecter que le liquide surnageant ainsi décanté. On note, de même que précédemment, une parfaite diffusion avec ce liquide.

Liquide de centrifugation.

Le même procédé peut être mis en œuvre plus rapidement en aidant la décantation par une centrifugation à petite vitesse.

Testicule de taureau — Broyat total.

C'est pour l'utilisation du testicule de taureau, qui procure du matériel en quantité beaucoup plus importante, que les méthodes plus perfectionnées ont pu être mises en œuvre.

Après ouverture des membranes, décollement de l'albuginée et ablation de l'épididyme, on recueille le tissu testiculaire dans un cristalliseur stérile.

Le broyage pose alors, comme pour celui de tout organe le même problème : à savoir la réduction des fragments en particules le plus fines possibles sans que l'opération ne risque d'infecter le broyat et sans qu'une perte importante de matière première ne soit enregistrée.

Les différents broyeurs peuvent être utilisés : soit petit broyeur de BORREL, soit encore mieux, broyeur de LATAPIE ou CHALYBEUS.

Nous avons dans nos expériences, utilisé le broyeur de LATAPIE. On obtient ainsi une sorte de broyat épais de

consistance visqueuse, que l'on recueillera dans un vase stérile.

Ce broyat, suspendu dans cinq parties d'eau physiologique, peut être utilisé directement en injection intradermique et détermine une diffusion particulièrement intense des particules colorées ou virulentes que l'on peut y incorporer.

Liquide de centrifugation :

Il semble pourtant plus indiqué de centrifuger ce broyat primitif, et de n'utiliser que le liquide surnageant.

Celui-ci, exploré en injection intradermique, présente un effet diffuseur beaucoup plus marqué que le produit de décantation repris dans du sérum physiologique et expérimenté de la même manière.

Cette impression est confirmée si l'on a soin de pratiquer des lavages successifs du culot de centrifugation et de réunir ces différentes eaux de lavage et le liquide surnageant après centrifugation.

C'est ce liquide qui constitue en somme notre « *extrait brut* » : il a une teinte opalescente, il ne dialyse pas et peut être identifié à la fraction protéinique du broyat.

Purification de l'extrait brut.

Il paraissait intéressant de préciser à quelle fraction des protéines appartenait le facteur de diffusion (34) *.

* Les recherches suivantes ont été effectuées sous la direction de M. le Dr Barbier, chef du laboratoire de Chimie de la Clinique Médicale Propédeutique de l'Hôpital Broussais-la-Charité.

Nous sommes heureux de profiter de l'occasion pour exprimer ici à M. le Dr Barbier, en dehors de nos remerciements, l'expression de notre admiration pour la synthèse si difficile qu'il a su réaliser en lui, d'une haute compétence physico-chimique et d'un très fin esprit clinique.

Nous avons traité l'extrait brut par du sulfate d'ammoniaque à saturation à parties égales; on sait en effet que le sulfate d'ammoniaque à demi-saturation précipite les globulines, tandis que le sérum-albumine reste en solution (18).

Nous avons pu ainsi, avoir la preuve que le facteur de diffusion est *associé aux globulines* : en effet, le précipité de globulines repris dans de l'eau physiologique bicarbonatée (pour en faciliter la dissolution) a un effet diffuseur presque aussi intense que le broyat total de testicule, tandis que la sérum albumine a un effet diffuseur très faible (cette faible activité du liquide surnageant étant de toute évidence le résultat d'une précipitation incomplète des globulines).

Nous avons encore utilisé une autre méthode : le suc testiculaire est d'abord traité par quatre volumes d'acétone : un précipité de protéines en partie dégraissées est ainsi obtenu ; ce précipité est dissous dans une petite quantité d'eau distillée. Dans cette solution, on fait passer un courant de gaz carbonique : les globulines sont ainsi précipitées à leur point isoélectrique. Ce dernier précipité est redissous dans de l'eau bicarbonatée ; cette solution qui contient les globulines s'est avérée douée du pouvoir de diffusion.

Ces expériences confirment donc celles de DURAN-REYNALS, MAC-CLEAN et FAVILI (34).

La preuve est faite que le facteur de diffusion est entraîné en grande partie dans la fraction globulinique du suc testiculaire ; mais ceci, bien entendu, ne nous permet pas de préjuger de la nature chimique exacte du facteur de diffusion qui pourrait n'être pas une globuline, mais une combinaison globulinique complexe ou même tout simplement une molécule adsorbée par la globuline.

Stockage

Toutes ces expériences d'isolement du facteur de diffusion avaient pour but d'essayer de préciser la nature chimique du facteur de diffusion, ce qui était particulièrement intéressant du point de vue théorique (20-18).

Mais elles avaient aussi un autre objet, celui-ci pratique, à savoir de mettre à notre disposition un stock de facteur de diffusion facile à conserver, de manière à ne pas nous obliger de refaire une nouvelle préparation d'extrait testiculaire à chaque expérience ; et en nous permettant d'utiliser la même préparation de facteur à des intervalles très éloignés, de nous mettre ainsi, dans la comparaison des résultats, à l'abri des erreurs pouvant provenir d'une inégale activité de diffusion d'extraits testiculaires originaires de testicules différents. En effet la conservation pendant longtemps d'un extrait testiculaire utilisable, exige certaines précautions.

Conservation du broyat testiculaire à la glacière.

Conserver à la glacière un simple broyat testiculaire est possible, mais fréquemment le testicule a été légèrement souillé, soit au cours de l'abattage de l'animal, soit au cours du broyage de l'organe ; or le broyat de testicule, constitue un milieu de culture très favorable, et le séjour à la glacière, nous l'avons constaté à plusieurs reprises, n'est pas toujours suffisant pour empêcher, soit la pullulation de bactéries, soit le développement de moisissures.

Notons en passant que cette infection de l'extrait ne paraît en rien diminuer l'action du facteur de diffusion.

Stérilisation du broyat par addition d'antiseptiques.

Nous avons essayé de stériliser le broyat testiculaire par adjonction d'antiseptiques ; les expériences entrepri-

ses dans cette idée, ont confirmé que *l'adjonction d'alcool ou de chloroforme ne modifiait en rien l'activité de l'extrait* ; mais une difficulté en résultait immédiatement ; si nous voulions diffuser une bactérie ou un virus, la présence d'un antiseptique détruisait, ou tout au moins atténuait leur virulence.

L'adjonction d'eau fluorée à 2 %, ne modifie pas l'effet diffuseur de l'extrait, mais cette eau fluorée n'a qu'un très léger effet antiseptique et n'empêche pas le développement des moisissures. Aussi avons-nous eu recours parallèlement à deux méthodes qui nous ont données au moins une satisfaction relative.

Préparation d'extrait sec.

C'est MAC-CLEAN (3) qui a recommandé cette technique.

Après précipitation du facteur de diffusion par l'alcool éther, il conseillait la stérilisation à la chaleur sèche à 160° pendant trente minutes ; il n'aurait pas observé de diminution importante de l'effet diffuseur par ce chauffage.

Le précipité pourrait être conservé pendant longtemps sans perte d'activité dans une boîte stérile. Avant usage, il est remis en dissolution.

La méthode à laquelle nous nous sommes arrêtés est un peu différente :

Nous réalisons sous vide la dessiccation du broyat total de testicule ; la poudre sèche était conservée au frigorifique. Avant l'emploi, nous faisons une émulsion en eau physiologique, nous la centrifugons et utilisons le liquide surnageant opalescent.

Mise en ampoules d'une solution de facteur préalablement filtrée.

La technique que nous avons utilisée est la suivante : à partir d'un broyat de testicule frais, nous nous conten-

tons de faire une émulsion en eau physiologique ; nous opérons une centrifugation. Le liquide surnageant est filtré à travers une bougie Chamberland L3 et mise en ampoules de deux centimètres cubes ; ces ampoules, à condition qu'elles soient en verre neutre et conservées à 0°, ont permis de garder pendant six mois le facteur de diffusion sans baisse appréciable de son activité.

CHAPITRE VI

ESSAI DE SYNTHÈSE DU FACTEUR DE DIFFUSION

Nous venons de voir que, par des méthodes chimiques habituelles, il semblait possible de localiser le facteur de diffusion dans la fraction globulinique des protéines ; tout essai plus poussé d'identification chimique du facteur a jusqu'à présent échoué par la méthode analytique.

ALBERT CLAUDE (15) a paru pouvoir faire progresser nos connaissances chimiques sur le facteur de diffusion en tentant au contraire un essai de *réalisation synthétique*.

Il a été mis sur la voie des recherches que nous allons résumer, par la constatation suivante :

En testant l'action de certains composés diazoïques sur la perméabilité de la peau, il reconnut que ces composés s'avérèrent être des agents diffusants vraiment actifs.

Il essaya alors de préciser à quelle portion de ces composés diazoïques était attribuable l'action apparente sur la perméabilité du derme.

L'acide sulfanilique à partir duquel le composé diazoïque est préparé est dépourvu d'activité diffusante.

Le composé diazoïque, à savoir l'acide p-diazobenzènesulfonique a, au contraire, un léger effet sur la perméabilité de la peau, mais ce composé diazoïque est très instable et il a une action irritative chez l'animal lorsqu'il est injecté en intradermique.

ALBERT-CLAUDE a réussi, en couplant le composé diazoïque avec de la tyrosine, de l'histidine ou d'autres substances de petit poids moléculaire, à obtenir un composé diazoïque stable qui détermine en intradermique une diffusion semblable à celle du diazo de l'acide sulfanilique, mais cette fois sans action irritative.

Toutes les diffusions obtenues jusqu'à présent étaient légères et nullement comparables à celles obtenues par l'extrait testiculaire ; ALBERT CLAUDE a alors combiné l'acide diazobenzène sulfonique avec de grosses molécules telles que celles provenant de sérums de diverses origines, d'albumine d'œufs, de caséine de gélatine.

Les azo-protéines préparées à partir de protéines sériques ou de protéines provenant d'albumine d'œuf, déterminèrent des diffusions étendues fort comparables à celle provoquée par l'extrait testiculaire ; celles préparées avec de la gélatine, une diffusion moindre.

Des expériences complémentaires permirent à A. CLAUDE, comparativement à l'effet diffuseur, d'étudier le rôle de la proportion relative des divers composants des azo-protéines, le rôle de la nature des différents acides aminés contenus dans la protéine, capables de réagir avec les composés diazoïques (tyrosine et histidine) et de préciser que l'acide sulfanilique pouvait indifféremment être remplacé par l'aniline ou l'acide arsanilique.

Il conclut que la propriété de diffusion conférée à la protéine par le couplage, paraît dériver de la présence d'un azo-groupe, que le pouvoir de diffusion d'une azo-protéine paraît être déterminée par le nombre de diazo-groupes qui entrent dans la molécule protéique, le type de la protéine comme celui du dérivé aromatique choisi pour le couplage n'affectant pas spécifiquement la propriété de diffusion. Il ajoute que lorsqu'un sel de diazonium est introduit dans le milieu neutre ou légèrement alcalin de la peau, ce couplage pourrait se faire aux dépens des propres protéines du sujet.

Ce qui semble particulièrement intéressant dans les recherches d'ALBERT-CLAUDE, c'est qu'il est ainsi amené à faire jouer un rôle dans la diffusion, plus au mode de couplage de la protéine qu'au type de la protéine ou du composé diazoïque ; il ajoute qu'un rôle important dans le phénomène de la diffusion semble être joué par la pression osmotique des azo-protéines qui est plus grande que celle des protéines originelles et suggère « *que nous sommes ici en présence d'un phénomène plutôt physique que chimique* ».

Nous concluons volontiers que c'est plus dans la *forme* de la molécule de l'azo-protéine que dans la *nature* de ses constituants qu'il faut chercher le véritable déterminisme de son activité.

Cette conclusion, bien que rien ne prouve que les azo-protéines et les extraits testiculaires aient un même commun mécanisme d'action, alors que tous deux déterminent cependant des effets de diffusion d'aspect fort semblable, nous pensons qu'elle est particulièrement importante pour la conception générale de la diffusion de substances variées dans le derme.

CHAPITRE VII

MODE D'ACTION DES FACTEURS DE DIFFUSION

A) — S'AGIT-IL D'UNE ACTION DIRECTE SUR LES VIRUS ?

L'expérience princeps de DURAN-REYNALS (2) montrant qu'un broyat de testicule normal, mélangé *in-vitro* à du virus vaccinal, puis injecté en intradermique chez le lapin déterminait une diffusion considérable de ce virus caractérisée par une lésion d'aire beaucoup plus étendue que l'injection intradermique de virus pur, semblait imposer à l'esprit du chercheur l'hypothèse que le broyat de testicule modifiait le virus en le rendant beaucoup plus envahissant (40).

Toutes les expériences ultérieures, nous l'avons dit, démentirent cette manière de voir ; en effet :

1° Le virus vaccinal récupéré d'une lésion diffusée se comporte chez d'autres animaux exactement comme un virus normal non envahissant.

2° Si l'on fait l'injection de broyat testiculaire dans le derme et que l'on injecte seulement secondairement le virus au même point, la lésion observée est également diffusée. Si l'extrait testiculaire n'agissait que directement sur le virus, il faudrait admettre que cet extrait est resté localisé au point d'injection sans subir aucune modification et a modifié le virus lorsque celui-ci a été injecté ; or, le temps s'écoulant entre les deux injections peut dans certains cas atteindre un jour ou deux et la diffusion est toujours aussi importante ; ceci cadre mal avec l'hypothèse d'une action spécifique sur le virus.

3° La même diffusion est observée quand l'extrait testiculaire est ajouté à des bactéries pathogènes ; il est vrai que l'on pourrait admettre que l'extrait testiculaire a exalté la virulence de la bactérie.

4° Si l'on remplace virus ou bactérie par une substance inerte telle que l'encre de chine ou n'importe quelle autre substance colorée, on assiste à la diffusion des particules colorées exactement comme se faisait la diffusion des particules virulentes. Cette observation paraît péremptoire : le broyat de testicule *n'agit pas sur le virus ou la bactérie qui est injectée, mais sur le tissu de l'hôte qui reçoit l'injection.*

B) — S'AGIT-IL D'UNE ACTION SUR LES CELLULES DE L'HÔTE ?

Abandonnée l'hypothèse d'une action directe sur les particules injectées, la première idée à se faire jour était que l'extrait testiculaire doit agir sur les cellules de l'animal qui reçoit l'injection : c'est en raison de l'augmentation de la perméabilité de la membrane cellulaire que particules virulentes ou non pénétreraient dans un plus grand nombre de cellules que normalement.

Cette action sur la perméabilité cellulaire, différents auteurs (29) ont essayé de la mettre en évidence, c'est ainsi que MAC-CLEAN (3) a constaté que le broyat testiculaire modifiait la perméabilité des ovules de poissons, que FAVILLI a noté une augmentation par le broyat de testicule de la fragilité des globules rouges (16). Mais des expériences ultérieures plus poussées ont révélées que lorsque l'on employait, non plus un broyat total de testicule, mais un extrait plus soigneusement préparé de cette glande (extrait qui déterminait en intradermique chez le lapin une aussi belle diffusion de l'encre de chine que le broyat total) cet extrait était dépourvu de tout effet sur la fragilité globulaire. Les études histologiques ont mon-

tré d'autre part que les particules d'encre de chine, dans les plus beaux cas de diffusion, étaient toujours peu nombreuses immédiatement à l'intérieur même des cellules. Enfin, le fait même que les diffusions les plus belles étaient observées dans le tissu conjonctif, où les cellules sont peu nombreuses semblait révéler que l'essentiel de l'action du facteur n'était pas primitivement cellulaire.

Si l'extrait testiculaire agit un peu sur la perméabilité cellulaire ce n'est que secondairement : le phénomène primordial est ailleurs.

C) — S'AGIT-IL D'UNE ACTION SUR LES ELEMENTS FIGURES DU TISSU CONJONCTIF ?

Puisque c'est essentiellement dans le tissu conjonctif qu'est observée l'action diffusante de l'extrait testiculaire, les auteurs ont essayé d'expliquer la diffusion observée par une action spécifique sur un des divers éléments figurés de ce tissu conjonctif : fibres nerveuses, capillaires ou fibres collagènes.

1° L'hypothèse d'une action sur les fibres nerveuses.

Est assez séduisante ; on pouvait admettre qu'une substance chimique se trouvait dans l'extrait testiculaire qui, agissant sur les terminaisons nerveuses déterminait par un mécanisme encore inconnu la diffusion. Mais l'injection, à la place de l'extrait testiculaire de toutes les substances douées d'une action directe sur les fibres nerveuses n'a jamais permis d'observer de diffusion des particules, semblable à celle déterminée par l'extrait testiculaire ; de même, aucune de ces substances, quel que soit son mode d'application, n'a jamais entraîné de modification de l'action de l'extrait testiculaire. Enfin, l'excitation électrique des nerfs (comme nous nous

en sommes assurés) ne détermine pas de diffusion de l'encre de chine, pas plus qu'elle ne modifie la diffusion provoquée par l'extrait testiculaire.

2° A défaut d'action sur les fibres nerveuses on pouvait penser à une action spécifique sur les capillaires. (31).

C'est dans ce but que des expériences ont été entreprises avec différentes substances vaso-constrictives ou vaso-dilatatrices ; dans toutes celles parvenues à notre connaissance, jamais ne fut observé, ni une diffusion déterminée par ces substances, ni une modification de la diffusion déterminée par l'injection concomitante de l'extrait testiculaire. Il ne semble donc pas que ce soit par un mécanisme vasculaire que s'exerce l'action diffusante de l'extrait testiculaire. Notons toutefois, qu'aussi bien dans nos propres expériences concernant l'obtention des vaccines généralisées avec adjonction d'extrait testiculaire (en particulier dans celles où l'injection locale d'extrait testiculaire semble constituer un point d'appel pour le virus) que dans celles rapportées par M. DURAN-REYNALS à propos du phénomène de SCHWARTZMANN, un certain rôle dans les lésions observées paraît imputable à une augmentation de la perméabilité capillaire ; mais cette modification de la perméabilité capillaire paraît être un phénomène secondaire et contingent et ne saurait en tout cas pouvoir expliquer tous les autres cas de diffusion.

Action sur les fibres nerveuses ou action sur les capillaires sont d'ailleurs fort voisines et ce qui revient à l'une ou à l'autre est difficile à préciser, ces deux mécanismes étant en général connexes.

Mais plus que tous les arguments précédents, une expérience de MAC-CLEAN (16) nous paraît avoir une très grosse valeur pour éliminer le rôle tant des fibres nerveuses que des capillaires, c'est la suivante :

Il tue un lapin, prélève sa peau ; sur cette peau conservée pendant quarante-huit heures sans aucune précaution il fait comparativement : d'un côté une injection d'encre de chine simple, de l'autre une injection d'encre de chine associée à de l'extrait testiculaire. L'encre de chine seule ne diffuse pas ; au contraire, l'encre de chine associée au facteur de diffusion diffuse presque autant que sur un animal vivant.

Dans cette peau qui commence à donner des signes de putréfaction, l'effet diffuseur ne saurait être mis ni sur le compte des filets nerveux, ni sur le compte des capillaires.

3° S'agit-il d'une action sur les faisceaux collagènes ?

Les faisceaux collagènes constituent un élément important du tissu-conjonctif ; c'est à leur plus ou moins grande abondance selon les points de l'organisme qu'est dûe la laxité plus ou moins accentuée de telle ou telle région (et l'on sait qu'il existe des régions où le tissu conjonctif est lâche et d'autres où le tissu cellulaire est dense).

L'expérience a montré que dans les régions de tissu cellulaire lâche (aîne, aisselle) l'encre de chine injectée sans adjonction de facteur, diffusait plus que dans les zones de tissu cellulaire dense (région juxta-vertébrale par exemple) ; on pouvait dès lors penser que l'effet diffuseur de l'extrait testiculaire était dû à une sorte de section physiologique des fibres collagènes, un peu comme si un coup de bistouri en sectionnant ces fibres et en augmentant ainsi la laxité du tissu permettait la diffusion des particules

C'est dans cette idée qu'ont été injectées chez le lapin, des substances caustiques telles que : acide sulfurique, acide chlorhydrique... etc... Ces injections n'ont ja-

mais permis de déterminer une diffusion de l'encre de chine, injectée soit en même temps soit postérieurement à la substance caustique.

De même l'étude histologique, comparativement, des zones ayant reçues de l'encre de chine seule ou de l'encre de chine associée à du facteur de diffusion, n'a montré aucune différence nette de l'aspect et du comportement des fibres collagènes ; les premières constatations à ce sujet faites sur la peau conservée dans du formol ne révélaient strictement aucune différence entre la zone témoin et la zone infiltrée d'extrait testiculaire. Pensant que la technique était mauvaise (et cela peut-être à cause de la conservation dans le formol), MAC-CLEAN a eu recours à l'examen extemporané de coupes congelées. Il a constaté alors du côté qui avait reçu de l'extrait testiculaire, un certain gonflement des fibres avec dilacération en certains points des fibrilles (3-41) ; cet aspect ne permet pas, semble-t-il, d'expliquer la diffusion, et ce gonflement des fibres est plutôt un phénomène secondaire, qui implique peut-être une certaine mobilisation de l'eau dans la région étudiée ; mais le phénomène primitif reste entièrement inconnu.

4° S'agit-il alors d'une action sur la substance fondamentale ?

L'expérience n'ayant permis de confirmer, ni l'hypothèse d'action sur la perméabilité cellulaire, ni celles sur les fibres nerveuses, les capillaires ou les faisceaux collagènes, il était logique de se demander si l'action de l'extrait testiculaire ne s'exerçait pas directement sur la substance fondamentale du tissu conjonctif.

On pouvait penser que cette action se ramenait à un phénomène purement physique, dû à une sorte de modification de la tension superficielle. C'est dans cette idée que furent injectées en intradermique des substances connues pour modifier la tension de surface. Mais on recon-

nut bien vite que les sels biliaires, la saponine, etc... ne déterminent jamais une diffusion semblable à celle de l'extrait testiculaire.

Abandonnant ainsi l'hypothèse d'une modification de la tension de surface, et dès lors, sans aucune idée préconçue sur le mode d'action de l'extrait testiculaire, on tenta de transporter l'expérimentation *in-vitro*.

MAC-CLEAN (3), par exemple, plaça à l'étuve des tubes de gélatine dans lesquels il déposait : soit une goutte d'encre de chine simple, soit une goutte d'encre de chine associée à de l'extrait testiculaire ; il a observé une égale diffusion dans les deux cas.

Il a d'autre part, déposé sur un tube de gélose incliné, placé à 42°, une goutte de sang et a constaté que les globules rouges effectuaient une migration considérable dans l'agar ; ajoutant alors de l'extrait testiculaire à la goutte de sang, il n'a noté aucune modification dans le cheminement des globules rouges.

Nous mêmes, dans des boîtes de Pétri, ou sur de grandes lames de verre placées horizontalement dans une étuve à 37°, avons étudié la diffusion dans la gélatine, la gélose à diverses concentrations (gélose molle, etc...) de plusieurs substances colorées : encres de chine de plusieurs marques, bleu de chicao, bleu de méthylène, carmin lithiné. Nous avons comparativement déposé dans ces boîtes ou sur ces plaques à la surface de la gélose ou de la gélatine : d'une part de la substance colorée seule, d'autre part de la substance colorée associée à de l'extrait testiculaire ; *nous n'avons jamais observé de différence nette dans le phénomène de la diffusion pouvant être mise sur le compte de l'extrait testiculaire.*

Par contre, *nous avons noté des différences dans la rapidité de la diffusion des diverses substances colorées* : ainsi, une encre de chine préparée avec les moyens de fortune, dont seuls on pouvait disposer à Paris en 1943, s'est révélée apte à diffuser, beaucoup moins rapidement qu'une encre de chine fabriquée avant la guerre. L'exa-

men au microscope de ces deux encres a montré que les particules de l'encre de remplacement *étaient beaucoup plus grosses que celles de l'encre datant du temps de paix.*

De même nous avons observé que le bleu de Chicago diffusait beaucoup plus vite et d'une manière beaucoup plus étendue que l'encre de chine.

Etudiant comparativement en injection intradermique chez le lapin, la diffusion de la même encre de chine et du même bleu de Chicago, nous avons noté que le bleu de Chicago, là encore, diffusait plus vite et plus largement que l'encre de chine. Ce fait, croyons-nous, doit être mis sur le compte de la plus grande finesse des particules de bleu de Chicago par rapport à celles de l'encre de chine ; mais, ce qui paraît particulièrement intéressant est de retrouver le même phénomène *in-vitro* et *in-vivo*, ce qui *laisse supposer que la diffusion in-vivo est sous la dépendance d'un phénomène physique, comme in-vitro.*

Nous avons alors pensé que l'échec auquel nous avions abouti dans nos recherches *in-vitro* pouvait être mis sur le compte d'une différence de constitution chimique entre, d'une part la gélose et la gélatine (qui avaient été utilisées dans nos expériences *in-vitro*) et, d'autre part, la substance fondamentale du tissu conjonctif.

Autrement dit, le problème consistait à essayer de disposer *in-vitro* d'une quantité suffisante de liquide de constitution analogue à celle de la substance fondamentale.

Faute de pouvoir nous procurer cette substance fondamentale, nous avons cherché à utiliser des liquides organiques de constitution, pensions-nous, voisine

Devant la difficulté d'obtenir une quantité suffisante de liquide d'œdème du tissu interstitiel, nous avons simplement prélevé par ponction, du liquide pleural et péritonéal chez un sujet atteint d'anasarque pour asystolie, d'une part (transsudat), et, d'autre part, chez un sujet

atteint de pleurésie sérofibrineuse (exsudat). Ces liquides, recueillis, soit en boîtes de PÉTRI, soit sur de larges plaques de verre maintenues horizontales ont été placés à l'étuve à 37°. Dans des boîtes et sur des plaques témoins, nous ajoutions au liquide une goutte d'encre de chine, dans d'autres boîtes et sur d'autres plaques nous disposions encore une goutte d'encre de chine, cette fois additionnée d'extrait testiculaire. Les résultats observés après une demie-heure d'étuve, ne révélèrent *aucune différence notable dans la diffusion de l'encre de chine dans les deux cas.*

Ces expériences négatives doivent-elles nous faire renoncer à l'hypothèse d'une action directe de l'extrait testiculaire sur la substance fondamentale ? Nous ne le pensons pas, et croyons plutôt que notre échec est dû à la différence de constitution ou de nature existant entre la substance fondamentale et les liquides pleural ou péritonéal transsudatifs ou exsudatifs que nous avons employés.

Quelle est la constitution chimique de la substance fondamentale ? Bien qu'elle n'ait jamais — à notre connaissance — pu être précisée exactement, faute de pouvoir s'en procurer une quantité suffisante pour en faire l'analyse exacte, on peut admettre schématiquement qu'elle comprend : de l'eau, des sels, des matières protéiques, des graisses, des hydrates de carbone. Comment peut-on concevoir une action de l'extrait testiculaire sur l'un ou l'autre de ces divers constituants ? *

* Les pages suivantes ont été rédigées à la suite de discussions renouvelées chaque matin avec le Docteur Robert Fasquelle et le Docteur Barbier dans le laboratoire de la Clinique Médicale Propédeutique (Professeur Villaret) à l'Hôpital Broussais-la-Charité.

Nous ne nous dissimulons pas la grande part d'hypothèses gratuites qu'elles renferment.

Sur l'eau, il nous semble difficile que l'extrait testiculaire puisse agir directement. Certes, rien n'est plus

complexe que le problème de la *mobilisation de l'eau* dans l'organisme, mais il nous semble logique d'admettre que, si l'eau joue un rôle dans le phénomène de diffusion que nous étudions (et nous croyons que ce rôle est très important, sinon essentiel ; rappelons à ce propos l'expérience citée précédemment où l'injection d'extrait testiculaire a rendu suintantes pendant plusieurs jours des plaies cutanées, déterminées par le rasoir, alors que sur le flanc opposé n'ayant reçu que des injections d'eau salée, des plaies semblables se sont rapidement séchées), ce rôle est secondaire à un phénomène primitif inconnu qu'il s'agit justement de préciser.

Sur les sels, et en premier lieu le chlorure de sodium, nous ne voyons pas non plus quelle pourrait être l'action directe de l'extrait testiculaire.

Nous avons fait l'expérience suivante : Dans la peau d'un lapin préalablement rasé, nous avons fait des injections intradermiques du même volume d'eau salée à 1 0/00, 4 0/00, 8 0/00 et 16 0/00. Nous avons observé à tous les points d'injection l'apparition de vésicules. Quelques instants plus tard, nous avons injecté dans chacune de ces vésicules un peu d'extrait testiculaire. Les vésicules ont aussitôt disparu, mais, autour du point d'injection de l'eau salée à 16 0/00, un gros œdème intradermique étendu s'est manifesté. Nous pensons que cette expérience peut être interprétée de la manière suivante : l'appel d'eau qui s'est produit en ce point est dû à la forte concentration de chlorure de sodium apporté dans la première injection, mais cet appel d'eau ne s'est manifesté que secondairement à la seconde injection, contenant de l'extrait testiculaire ; comme le rôle de l'eau, le rôle des sels est donc secondaire ; le phénomène primitif, à savoir la rupture par l'extrait testiculaire des barrières qui s'opposaient à l'arrivée de l'eau ou à la mobilisation de celle-ci, reste inexpliqué.

En quoi consistait le barrage ? A quoi est dû sa rupture ? Quel était le lien qui retenait l'eau, comment celle-ci a été libérée ? C'est là tout le problème.

Puisque ce n'est ni sur l'eau, ni sur les sels, que paraît agir primitivement l'extrait testiculaire, nous sommes amenés à admettre que c'est sur les matières protéiques, les hydrates de carbone ou les graisses que se manifeste son action.

Notre hypothèse de départ était la suivante : nous admettions volontiers que tout se ramenait à une question de grosseur des molécules constitutives de la substance fondamentale, et nous envisagions pour les facteurs de diffusion un mécanisme de ce genre : normalement ces molécules seraient grosses et constitueraient par leur masse même un barrage s'opposant à la diffusion des particules colorées ou virulentes injectées ; l'extrait testiculaire aurait pour effet de décomposer ces grosses molécules en molécules plus petites qui laisseraient diffuser plus facilement entre elles les dites particules.

L'action sur les matières protéiques nous paraissait fort vraisemblable, à cause de la facilité avec laquelle leurs poids moléculaires peuvent varier en fonction de multiples facteurs, entre autres le pH et le potentiel électrique. On pouvait donc penser que l'extrait testiculaire avait un effet sur la congglomération ou la dislocation des molécules protéiques. Les recherches d'ALBERT CLAUDE, que nous avons citées précédemment, sur la synthèse des azoprotéines et leur effet diffuseur, nous semblaient à rapprocher de cette éventualité. Par contre, le fait que la trypsine injectée par voie intradermique ne détermine pas d'effet diffuseur était un argument contre une action protéolytique.

En faveur d'une action sur les *hydrates de carbone* s'inscrivait en premier lieu le fait que le tissu conjonctif est riche en une matière de type mucopolysaccharidique. C'est en se basant sur cette constatation que CHAIN et DUTHIE (17) eurent l'idée d'étudier *in-vitro* l'effet de l'extrait testiculaire sur des mucines de diverses origines. Ils montrèrent que l'adjonction d'extrait testiculaire à du liqui-

de synovial ou à de l'humeur vitrée, suivie d'un séjour à l'étuve pendant trente minutes, détermine un abaissement considérable de la viscosité de ce liquide, mesurée au viscosimètre d'OSTWALD; ils vérifièrent que cette action s'explique par la décomposition d'un polysaccharide contenu dans le liquide synovial et l'humeur vitrée, avec libération de substances réductrices, dont la quantité peut être mesurée en équivalents de glucose. ~ ~ ~

Ils en conclurent que l'effet diffusant de l'extrait testiculaire était dû à un enzyme ou *mucinase*, dont l'effet est de décomposer le *muccopolysaccharride spécial contenu dans la substance fondamentale*. Le polysaccharide paraissant être l'acide hyaluronique, l'enzyme à laquelle serait due l'action diffusante de l'extrait testiculaire pourrait être dénommée *hyaluronidase*. ~

Aussi séduisante que soit cette hypothèse d'enzyme glucidolytique, remarquons qu'elle paraît peu conciliable avec la constatation de MAC-CLEAN (3) selon laquelle l'extrait de testicule après chauffage à 160° pendant trente minutes conserverait son activité diffusante.

Notons que l'action de l'extrait testiculaire *in-vitro* est immédiate, alors qu'en général une action enzymatique met quelque temps avant de se manifester.

Rappelons enfin que, de même qu'on a mis en évidence dans le broyat total de testicule l'existence d'un enzyme protéolytique d'une part, d'un facteur de fragilisation des globules d'autre part — sans que ces substances soient identifiables avec le facteur de diffusion — de même la constatation d'un enzyme glucidolytique ne permet pas d'emblée de l'identifier avec le facteur de diffusion.

Ces remarques sont simplement destinées à souligner que le problème de l'enzyme n'est pas complètement résolu, mais ne tendent nullement à nier l'importance que peut avoir, dans le phénomène de diffusion, l'action glucidolytique de l'extrait testiculaire.

Quant à une action de l'extrait testiculaire sur *les matières grasses*, si elle est aussi fort bien concevable, ajoutons qu'aucun fait, ni théorique, ni expérimental, n'a jamais encore été invoqué en sa faveur.

Mais, parvenus en ce point de notre raisonnement, nous croyons indispensable de faire une remarque : Lorsque, après avoir éliminé une action sur les éléments figurés du tissu conjonctif, nous nous sommes ralliés à l'idée d'une action sur la substance fondamentale, nous avons, sous prétexte d'analyser l'éventuelle action sur les divers constituants, successivement envisagé l'action sur l'eau, sur les sels, les *protides*, les *glucides* et les *lipides*. Eh bien ! nous nous demandons si nous avons le droit de faire cette distinction entre l'action possible sur les divers constituants de la substance fondamentale.

C'est qu'en effet, cette distinction que nous faisons entre l'eau, les sels, les protides, les lipides et les glucides de la substance fondamentale, est tout à fait artificielle et ne correspond qu'à une invention de notre esprit, avide de simplification et de classification, ou plutôt, cette distinction n'est vraie que pour les produits qui résulteraient de la dislocation analytique de la substance fondamentale, mais elle est certainement fausse pour la substance fondamentale envisagée dans son état physiologique. Comme toute substance organique et vivante, elle doit en effet être envisagée dans sa structure naturelle, et il n'y a plus alors à distinguer : ici des molécules d'eau, là des molécules de sels minéraux, des molécules protidiques, glucidiques ou lipidiques, mais des molécules complexes, sortes de cénapes protido-glucidolipidiques, dont font partie intégrante les constituants des sels minéraux et dans les mailles desquelles sont ensermées des quantités d'eau plus ou moins considérables, mais d'une eau bien spéciale, que l'on appelle « *l'eau de gonflement* », « *l'eau liée* », sans que l'on puisse préciser exactement quelle est la nature de ce lien qui a pour

effet de lui faire perdre ses propriétés les plus caractéristiques en chimie minérale, c'est-à-dire : *sa perméabilité et son pouvoir de solvation*.

Notons que cette conception est loin d'être nouvelle et que l'on connaît fort bien en particulier ces combinaisons lâches de polysaccharides et de protéines appelées *mucoïdes*, qui constituent des gels dont le gonflement par l'eau peut être plus ou moins important, et qui semblent se rapprocher beaucoup de la substance fondamentale que nous étudions.

Ainsi, nous envisagerions l'action des facteurs de diffusion sur les molécules complexes du gel fondamental, comme une *dislocation de celles-ci avec mise en liberté de leurs divers constituants*.

Or, parmi les constituants du gel, nous avons vu que l'eau joue un rôle important. Cette eau qui, dans le gel, était liée, retrouverait sa liberté et ses caractères d'*eau perméable et solvante*. C'est elle que nous aurions vu suinter des plaies du rasoir dans l'expérience que nous avons rappelée ; c'est elle qui serait attirée par la forte concentration de chlorure de sodium que nous avons injectée dans une autre expérience ; c'est elle enfin qui jouerait le rôle principal dans la diffusion des particules virulentes, colorées ou toxiques qui sont injectées dans le derme.

Quand nous injectons de l'eau physiologique dans un derme normal, l'eau introduite éprouve de la résistance à pénétrer dans le gel fondamental ; c'est ce qui explique la persistance pendant un temps assez long de la vésicule ; si au contraire un facteur de diffusion disloque le gel et met en liberté l'eau qui était emprisonnée, celle-ci, et l'eau que nous injectons, se mêlent aussitôt : il n'y a pas de vésicule. Et les substances en suspension dans l'eau injectée en intradermique diffusent aussitôt dans l'eau libérée, comme lorsque l'on dépose une goutte d'encre de chine dans un verre rempli d'eau, les parti-

cules d'encre de chine diffusent dans toute l'eau du verre.

Ainsi, l'analyse de ce phénomène mystérieux de l'action diffusante de certains extraits permet peut-être de ramener le problème à celui, beaucoup plus général, de la diffusion de n'importe quelle substance dans le tissu conjonctif d'un organisme.

L'action particulière de l'extrait testiculaire est peut-être d'attaquer essentiellement la partie glucidique des molécules du gel (et ceci sans que soit prouvé que cela se fasse par l'intermédiaire d'un véritable enzyme); l'action d'autres extraits, d'autres organes tels que le rein, ou de venins, ou de tumeurs cancéreuses, est peut-être la même ou peut encore provenir de l'attaque d'une autre portion (protidique ou lipidique) de la molécule.

Peu importe, le résultat est le même : la *dislocation du gel et la mise en liberté de l'eau qu'il tenait emprisonnée*. Tout ce qui disloque le gel favorise la diffusion ; et l'on conçoit très bien que dans certains cas cette dislocation du gel ne soit pas le fait d'un *apport exogène* mais soit sous la dépendance d'un *phénomène endogène* (œdème, cachexie, néphrose lipoïdique dégénérescence amyloïde) ; il est fort probable que le test d'ALDRICH et MAC-CLURE trouve son explication dans un mécanisme de ce genre.

En somme, le phénomène de diffusion des particules colorées ou virulentes sous l'action de l'extrait testiculaire nous paraît pouvoir se résumer ainsi :

1° ACTION DE L'EXTRAIT TESTICULAIRE SUR LE GEL FONDAMENTAL DU TISSU CONJONCTIF QU'IL DISLOQUE AUSSITOT AVEC MISE EN LIBERTE DE L'EAU QUI Y ETAIT LIEE.

2° DIFFUSION CONSECUTIVE DES PARTICULES DANS L'EAU AINSI LIBEREE SELON LES LOIS PHYSIQUES DE LA DIFFUSION.

CHAPITRE VIII

DÉDUCTIONS

L'étude que nous venons de poursuivre, permet quelques déductions : les unes ayant trait à des points particuliers qui sont peut-être susceptibles de recevoir certains éclaircissements par la connaissance des facteurs de diffusion ; les autres d'ordre très général posant un problème de biologie qui dépasse le cadre dans lequel les observations ont été poursuivies.

DÉDUCTIONS THEORIQUES.

1° *LE VIRUS D'ORIGINE TESTICULAIRE :*

Les auteurs avaient noté depuis longtemps que les pustules cutanées déterminées par injection intradermique de vaccin testiculaire étaient parfois d'une dimension considérable.

La raison de cet aspect est maintenant présumable : elle serait due à la présence de facteur de diffusion dans le broyat de testicule atteint d'orchite vaccinale et qui se trouve ainsi injecté en même temps que le virus de culture testiculaire.

2° *CERTAINS GERMES* et particulièrement les bactéries de la gangrène gazeuse étaient réputées déterminer des lésions envahissantes ; le rôle du facteur de diffusion s'associant à celui des toxines paraît donner l'explication des lésions déterminées par ces germes.

3° AU COURS DE CERTAINES INFECTIONS, on observe parfois l'apparition de lésions généralisées dues à un autre germe ; on peut, semble-t-il, admettre que le germe primitif contenait un facteur de diffusion, qui, en modifiant la substance fondamentale a favorisé la diffusion, non seulement de lui-même, mais également du germe associé ; celui-ci, parfois prendra alors un rôle pathogène prédominant, ce qui pourrait peut-être expliquer le curieux phénomène décrit par Nicolle à propos des « *virus de sortie* ».

La raison de certaines généralisations tuberculeuses à la suite d'une infection dite « banale » aurait peut-être la même origine.

4° CERTAINS CANCERS AU COURS DE LEUR EVOLUTION se compliquent brusquement de métastases généralisées : en particulier de nodules sous-cutanés multiples. Deux interprétations sont possibles, faisant jouer un rôle aux facteurs de diffusion. La première explique la généralisation par le fait que le tissu cancéreux contiendrait lui-même un facteur de diffusion : DURAN-REYNALS et STEWART (14) ont montré que le broyat de certains cancers avaient des propriétés diffusantes. La seconde met la généralisation cancéreuse sur le compte d'une infection concomitante due à un germe doué lui-même d'un pouvoir de diffusion.

Enfin, une troisième explication peut être encore envisagée : le cancer provoquant la cachexie, celle-ci détermine une modification physico-chimique du gel fondamental, le rendant propice à la diffusion de n'importe quelle substance.

A cet égard, citons l'observation personnelle suivante :

M. D. C..., âgé de 45 ans, entre salle Letulle, lit n° 7, Service Professeur Villaret.

Hôpital Broussais-la-Charité.

Amaigrissement de 12 kgs en trois mois ; il présente des adénopathies multiples, des nodules indurés sous-cutanés généralisés, en particulier au niveau de l'abdomen, des fosses lombaires, de la face antéro-latérale du thorax, du sein droit, du cuir chevelu.

Le toucher rectal révèle une grosse prostate, notamment au niveau du lobe gauche que le doigt n'arrive pas à délimiter vers le haut.

Les autres glandes : reins, thyroïdes, testicules sont normales.

Pendant son séjour à l'hôpital de nouveaux nodules hypodermiques apparaissent en même temps qu'une éruption cutanée acnéiforme sur le tronc.

Une biopsie d'un nodule sous-cutané révèle un épithélioma d'origine glandulaire ; un prélèvement d'une lésion acnéiforme montre la présence d'un staphylocoque doré.

On injecte en intradermique dans les deux régions deltoïdiennes un quart de centimètre cube de bleu de Chicago ; on note une diffusion immédiate du bleu de Chicago sur une aire de vingt-cinq centimètres carrés de chaque côté, alors que chez deux sujets témoins la même injection de bleu de Chicago ne colore qu'une surface de un centimètre carré.

A l'autopsie : Cancer de la prostate.

Dans cette observation, ce qui nous paraît intéressant, c'est d'avoir assisté concurremment à la généralisation des métastases cancéreuses, des lésions acnéiformes staphylococciques et à la diffusion du bleu de Chicago. L'explication est-elle que le cancer contenait un facteur de diffusion qui a déterminé les trois phénomènes ou que le cancer primitif, avec les compressions qu'il exerçait a entraîné un état cachectique avec modification du tissu interstitiel le rendant propice à la diffusion des cellules cancéreuses, du staphylocoque et du bleu de Chicago.

5° *Un autre problème se pose à propos du facteur de diffusion testiculaire. Le facteur de diffusion testiculaire joue-t-il un RÔLE PHYSIOLOGIQUE NORMAL ?*

On ne sait pas encore bien à vrai dire quelle portion du testicule contient le facteur de diffusion ; MAC-CLEAN a néanmoins montré que les spermatozoïdes de lapin, de cobayes et d'hommes en contiennent une grande quantité et la question se pose immédiatement de savoir si le facteur de diffusion ne jouerait pas un rôle dans la fécondation ?

L'hypothèse nous semble plausible que le facteur de diffusion des spermatozoïdes puisse modifier dans le sens de la fluidification le glaire cervical (ou les mucosités des voies génitales féminines) et ainsi favoriser leur progression.

6° *L'importance peut-être la plus grande* de cette étude des facteurs de diffusion, amorcée par celle de l'effet diffusant de l'extrait de testicule, nous paraît être d'avoir attiré l'attention sur le **ROLE CONSIDÉRABLE QUE JOUENT LES MODIFICATIONS PHYSICO-CHIMIQUES DE LA SUBSTANCE FONDAMENTALE DANS LA DIFFUSION DES PARTICULES** ; en effet, sans qu'aucun facteur de diffusion actuellement connu puisse être mis en jeu, on conçoit facilement qu'au cours de nombreuses affections, les modifications physico-chimiques de la substance fondamentale puissent survenir qui la rendent propice à la diffusion de particules virulentes ou colorées. Ces particules, qui chez un sujet normal n'auraient pas tendance à diffuser, diffuseront au contraire chez des malades dont le gel interstitiel aurait été modifié.

Citons à l'appui de cette hypothèse les observations suivantes :

Trois sujets témoins reçoivent dans la région deltoïdienne une injection d'un quart de centimètre cube de bleu de Chicago, on note immédiatement l'apparition d'une vésicule colorée tendue, la surface colorée n'excédant pas un centimètre carré ; en même temps, reçoivent une injection similaire :

a) Un sujet de seize ans atteint de néphrose lipoïdique avec œdème des membres inférieurs et de la paroi abdominale mais sans aucun œdème des membres supérieurs : diffusion immédiate du bleu sur une aire d'environ vingt centimètres carrés.

b) Un sujet de 45 ans, tuberculeux cavitairé, cachectique, avec amaigrissement extrême : diffusion immédiate très importante du bleu.

c) Un sujet atteint de dégénérescence amyloïde : grosse diffusion aussitôt.

Ainsi chez ces trois sujets, nous avons observé une diffusion immédiate et étendue des particules colorées,

contrasiant avec la rétention sur place de particules colorées semblables chez trois sujets normaux.

Nous admettrions volontiers que cette diffusion des particules colorées est due à une modification physico-chimique du gel fondamental de ces sujets, modification vraisemblablement parallèle aux variations des constantes physico-chimiques du sérum que l'on peut rencontrer dans de telles affections (modification du taux des sérines et des globulines, réactions de floculation, etc...). Ces modifications de la substance fondamentale expliqueraient sans doute en grande partie les phénomènes cliniques que l'on peut observer chez de tels sujets : *diffusion d'une infection ou d'une intoxication qui auraient gardé un caractère local chez un sujet normal*, mais qui chez eux se généralisent immédiatement et revêtent par suite un caractère de gravité pouvant aller souvent jusqu'à l'évolution fatale.

La diffusion des particules virulentes ou de la substance toxique, comme celle du bleu de Chicago, serait due à une simple dispersion physique dans le gel fondamental devenu propice à la diffusion.

7° *Le rôle de la diffusion est peut-être aussi très important* dans les MANIFESTATIONS ALLERGIQUES OU DE SENSIBILISATION.

Dans nos expériences sur l'allergie vaccinale ou tuberculinique nous avons vu que l'explication des faits que nous avons constatés faisait intervenir deux éléments :

1° Le degré de sensibilisation du sujet.

2° L'importance de la diffusion de l'antigène utilisé pour l'exploration de cette sensibilisation.

Si le sujet est faiblement sensibilisé, la diffusion de l'antigène a pour effet d'éteindre la positivité de la réaction allergique ; car l'antigène diffusé sur une large surface n'est plus à une concentration suffisante pour déterminer cette réaction.

Si le sujet est fortement sensibilisé, la diffusion de l'antigène augmente l'aire de réponse positive, puisque,

même diffusé, l'antigène reste partout à une concentration relative capable de provoquer la réaction.

Dans ces expériences, c'est l'adjonction d'extrait testiculaire que nous injectons en même temps que l'antigène qui faisait varier la diffusion, en modifiant selon notre hypothèse la constitution locale du gel interstitiel. Mais de même que dans le paragraphe précédent nous avons vu qu'une modification spontanée de la substance fondamentale peut déterminer la dispersion des particules virulentes, de même il est logique d'admettre qu'une telle modification spontanée de ce gel peut modifier la réponse à une exploration de l'état de sensibilisation par l'introduction d'un antigène.

Vis-à-vis de la réaction tuberculinique, un certain nombre d'affections sont réputées anergisantes : rougeole, cachexie, etc... ; peut-être, cet effet anergisant s'explique-t-il par une modification de constitution de la substance fondamentale déterminée par ces affections. Il serait intéressant d'étudier au cours de ces dites maladies anergisantes, la diffusion de substances colorées en injections intradermiques. Cette même étude pourrait également être faite chez les sujets âgés qui présentent, nous dit-on, un pourcentage moins grand de réactions tuberculiniques positives.

Quant aux anergies temporaires, observées dans certains cas, il serait intéressant de pouvoir, par l'exploration concomitante du bleu de Chicago par exemple, les rapporter à une modification transitoire de la substance fondamentale ; notons qu'il est classique de dire qu'au cours de ces périodes d'anergie, le sujet est particulièrement fragile et réceptif à l'égard de nombreuses infections ; cette réceptivité polyvalente ne pourrait-elle pas être mise sur le compte de l'aptitude à la diffusion du gel interstitiel ?

Les fortes réactions locales, même, (aspect en cocarde ou phlycténoïde sur une large surface) ou générales (fièvre, etc...) observées à la suite d'injection de tuberculine,

pourraient peut-être être expliquées — en plus du haut degré de sensibilisation du sujet — par la modification de l'état de la substance fondamentale en rapport avec l'évolution de l'infection tuberculeuse, cet état du gel le rendant propice à la diffusion de la tuberculine injectée dans un but diagnostique ou thérapeutique.

8° DANS LES DERMATOSES, le rôle de la diffusion mérite aussi d'être étudié (12).

Ne serait-il pas intéressant d'aborder cette étude en recherchant si, chez de tels malades, on ne décelait pas des propriétés particulières, propres à assurer chez eux un état de diffusion, par l'emploi de tests avec des substances colorées ?

Ne serait-il pas possible ainsi de comprendre pourquoi chez certains sujets une lésion cutanée demeure circonscrite et chez tel autre se fera une poussée avec généralisation plus ou moins étendue.

Ce problème apparaîtra alors bien vite intimement mêlé à celui des sensibilisations cutanées et il peut sembler difficile même d'apporter des distinctions formelles entre des généralisations spontanées et celles qui s'effectuent à la faveur de l'acquisition préalable d'un véritable état allergique.

On sait l'importance de ces phénomènes notamment depuis les recherches de RAVAUT dans certains eczémas ou parakératoses infectieuses ; dans de semblables observations, il serait singulièrement intéressant de connaître, par l'emploi de tests, quel est le comportement du tissu conjonctif à l'égard de la diffusion des particules, ce qui reviendrait en somme, par des méthodes appropriées, à explorer le comportement du tissu conjonctif, au même titre que l'on étudie l'équilibre plasmatique.

9° Nous venons d'étudier tout ce qui favorisait la diffusion dans l'organisme ; nous avons vu que l'extrait testiculaire injecté localement déterminait une diffusion locale des particules colorées ou virulentes ; nous avons ajouté qu'il paraissait vraisemblable que des modifica-

tions spontanées du gel interstitiel aboutissent à des diffusions similaires.

En sens inverse il paraît intéressant de préciser tout ce qui dans l'organisme peut s'OPPOSER à la DIFFUSION.

A cet égard, il est évident que les *dispositions anatomiques* jouent un rôle primordial : un tissu conjonctif dense, une aponévrose, s'opposent à la diffusion d'une substance colorée ou d'un germe qui diffusera au contraire dans un tissu cellulaire lâche ou dans une zone située entre deux plans aponévrotiques ; remarquons en passant qu'une aponévrose n'est en somme qu'un tissu conjonctif dans lequel la proportion des fibres collagènes ou élastiques est devenue prédominante, tandis que le gel interstitiel y est réduit au minimum.

De même une *cicatrice*, une paroi d'abcès, un tissu de granulation constituent des barrières à la diffusion (21).

Que ces barrières soient anatomiques ou pathologiques (27), leur action est la même : elle est mécanique et s'opposera aussi bien à la diffusion spontanée seule, qu'à la diffusion considérablement accentuée ailleurs par l'adjonction d'extrait testiculaire.

Favilli a montré que l'injection en une région du tissu conjonctif de bouillon, de gluconate de calcium ou d'uréthane annihile en ce point l'effet diffusant d'une injection ultérieure d'extrait testiculaire (21).

Plus intéressante est l'action inhibitrice qu'exerce une *inflammation*, quelle qu'elle soit, sur la diffusion (26) (50) ; les colorants et microbes injectés dans une aire inflammatoire ne la dépassent pas ; injectés à la périphérie d'une telle lésion ils ne réussissent pas à y pénétrer, or, comme le fait remarquer DURAN-REYNALDS, on a une certaine idée de la manière dont l'inflammation s'oppose à la diffusion. MENKIN a montré que, dans le tissu inflammatoire, se réalise une exsudation de fibrinogène et d'autres protéines plasmatiques aboutissant à la for-

nation d'un réseau de fibrine dans les espaces intercellulaire. C'est cette modification de la constitution de la substance interstitielle qui détermine la fixation des particules colorées ou virulente et leur rétention dans les foyers inflammatoires (42).

Tout ce mécanisme, dans le cas de l'inflammation, est peut-être déclenché par la formation dans le foyer lui-même d'une substance décrite et isolée par MENKIN, qui aboutirait en somme à un effet inverse de celui des facteurs de diffusion.

Et de même que, dans ce cas, une substance formée sur place paraît être capable de diminuer localement l'aptitude à la diffusion du tissu conjonctif, de même il paraît logique d'admettre qu'une certaine qualité physico-chimique du tissu interstitiel sous la dépendance de conditions générales, peut dans d'autres circonstances s'opposer aux phénomènes de diffusion.

DEDUCTIONS PRATIQUES.

A titre d'hypothèse, du point de vue pratique, l'étude de l'extrait testiculaire et des facteurs de diffusion peut laisser espérer quelques réalisations :

1° L'adjonction d'extrait testiculaire à certains anesthésiques locaux (32), devrait pouvoir permettre avec un minimum de points d'injection d'obtenir un maximum d'action de surface.

Mais, d'emblée, nous mettons en garde les expérimentateurs qui voudraient utiliser ce procédé en milieu septique (Panaris. etc...), du danger auquel ils s'exposeraient en diffusant, non seulement l'anesthésique, mais également les microbes pathogènes.

2° L'injection d'extrait testiculaire pourrait être envisagée concurremment à celle de certains sérums dont on obtiendrait ainsi une plus grande surface d'action et,

par suite, une plus grande rapidité de résorption ; il pourrait en être de même de certains vaccins ou même de certaines substances médicamenteuses, nutritives ou vitaminiques.

3° L'effet diffusant de l'extrait testiculaire mérite d'être connu de tous ceux qui peuvent être amenés à l'utiliser dans un but opothérapique ; à l'action hormonale recherchée, peut, en outre, s'ajouter un effet diffusant, dont il peut n'être pas inutile de discuter par avance les éventuelles conséquences.

4° Dans l'exploration de l'allergie, l'extrait testiculaire pourrait trouver son utilité en permettant d'obtenir une action de l'antigène sur une plus large surface.

5° L'extrait testiculaire mériterait d'être essayé pour modifier l'état de la substance interstitielle dans certaines maladies ; s'il est vraisemblable d'admettre qu'il ne saurait agir dans la sclérodermie, il n'en serait peut-être pas de même dans certaines affections caractérisées par une infiltration mucoïde du tissu conjonctif, tel, certains trophœdème ou même le myxœdème.

6° La découverte ou l'isolement d'une substance anti-diffusante serait importante ; elle pourrait permettre de limiter des infections à manifestations cutanées envahissantes, peut-être de s'opposer à la généralisation de certaines métastases cancéreuses. Ajoutons que rien, jusqu'à présent, ne permet de dire que l'on soit seulement sur la voie d'une telle découverte.

7° Enfin, l'étude de l'extrait testiculaire et des facteurs de diffusion, en attirant l'attention sur l'importance de la constitution physico-chimique du gel fondamental, dans de très nombreux états physiologiques ou pathologiques, permettrait de mettre au point un *TEST D'EXPLORATION PRATIQUE* de l'aptitude ou non à la diffusion de ce gel interstitiel ; il suffit d'injecter dans le derme du sujet une petite quantité de substance colorante et d'apprécier aussitôt l'extension de la surface colorée. Ce test pourrait avoir un réel intérêt pour fixer la pathogénie et le pronostic de nombreux états pathologiques.

CONCLUSIONS

DURAN-REYNALS en 1939 a montré que l'adjonction d'extrait testiculaire à un neuro-virus vaccinal injecté par voie intradermique, détermine une augmentation considérable des lésions cutanées.

La même diffusion s'observe lorsque des particules inertes (encre de chine) sont substituées aux particules virulentes.

Cette diffusion déterminée par l'extrait testiculaire constitue donc un phénomène tout à fait général qui peut avoir une grosse importance en biologie.

Nous avons repris l'étude de ce problème de la diffusion des particules dans le tissu conjonctif.

Il nous paraît possible, à l'heure actuelle, de formuler les conclusions suivantes :

1^o EN CE QUI CONCERNE LA VACCINE, l'artifice de la diffusion par l'extrait testiculaire du virus vaccinal :

— constitue un nouveau moyen de mettre en évidence les propriétés dissemblables du virus de provenance épidermique et du neuro-virus ;

— n'apporte pas de données particulièrement nouvelles dans l'obtention des vaccines généralisées ;

— permet d'expliquer la grande extension de certains virus de provenance testiculaire, sans toutefois rendre compte de leur affinité particulière pour les couches profondes du revêtement cutané ;

— fait ressortir, dans la recherche des tests de l'allergie, l'importance tout à la fois du degré de la sensibilisation et de la concentration relative de l'antigène.

2^o APPLIQUE A L'ETUDE DE LA TUBERCULOSE EXPERIMENTALE, l'extrait testiculaire chez un animal

neuf augmente l'étendue de la lésion locale de primo-inoculation, mais ne détermine aucune modification dans la généralisation tuberculeuse.

Quand il s'agit d'une réinfection, il transforme la réaction locale, habituellement limitée, en une lésion escharotique très étendue, mais l'animal conserve sa résistance habituelle au nouvel apport virulent ; ainsi sont soulignés les deux éléments dissociables dans le phénomène de Koch : la sensibilisation et la résistance.

Il confirme enfin, dans l'allergie tuberculinique, le rôle de la concentration relative du produit injecté pour explorer la réactivité.

3° SI L'EXTRAIT TESTICULAIRE DE MAMMIFÈRE représente sans conteste la source principale de « *facteur de diffusion* » (et si dans les testicules, ce sont les éléments de la lignée spermatique qui paraissent élaborer ce dit facteur) on peut néanmoins montrer que sont doués d'un certain pouvoir de diffusion des broyats de reins, d'embryons de poulets, des extraits de germes pathogènes, d'animaux venimeux et de certains tissus néoplasiques.

4° LA CONSTITUTION CHIMIQUE DU « FACTEUR DE DIFFUSION » n'a pu encore être précisée ; dans les extraits testiculaires, c'est la fonction globulinique des protéines qui semble active ; des azoprotéines de synthèse se sont par ailleurs révélées douées d'un certain pouvoir diffuseur.

5° LE MODE D'ACTION DES FACTEURS DE DIFFUSION n'est pas encore bien élucidé ; il semble bien néanmoins qu'ils agissent par modification du tissu conjonctif qui ne porte pas sur les éléments figurés de celui-ci (cellules, fibres nerveuses, capillaires ou faisceaux collagènes) mais sur la substance fondamentale ; le *gel mucoïde* qui la constitue subirait, sous l'effet du facteur de diffusion une dislocation physico-chimique immédiate, mettant en liberté son « *eau liée* » ou « *de gonflement* » ; dans cette eau ayant retrouvé ses caractères définis en

chimie minérale, la dispersion des particules s'opérerait selon les lois habituelles de la diffusion.

6^e CETTE VARIATION DE L'ETAT PHYSICO-CHIMIQUE de la substance fondamentale pourrait ainsi se concevoir : tantôt elle serait due à l'apport exogène d'un facteur de diffusion ; ce serait le cas dans les lésions envahissantes dues aux germes de la gangrène gazeuse, dans certaines associations de germes dont l'un ferait « sortir » et diffuser l'autre, dans la généralisation, peut-être même, de certains cancers. Tantôt elle résulterait d'un phénomène endogène et rendrait compte de la diffusion des infections chez les cachectiques ou de la généralisation de certaines dermatoses, ou de l'extinction des réactions tuberculiniques au cours de divers états dits anergiques.

7^e ENFIN, L'ETABLISSEMENT D'UN TEST (injection intradermique d'une substance colorante, et mesure de l'étendue de la surface colorée) permettrait de préciser l'état de la substance fondamentale et pourrait avoir un intérêt pronostic dans de nombreux états pathologiques, notamment dans les dermatoses dont on pourrait ainsi prévoir la tendance à se circonscrire ou à se généraliser.

Vu : *Le Doyen*,

A. BAUDOUIN.

Vu : *Le Président de Thèse*,
Professeur GASTINEL.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER,
Le Recteur de l'Académie de Paris,
G. GIDEL.

PLANCHE I

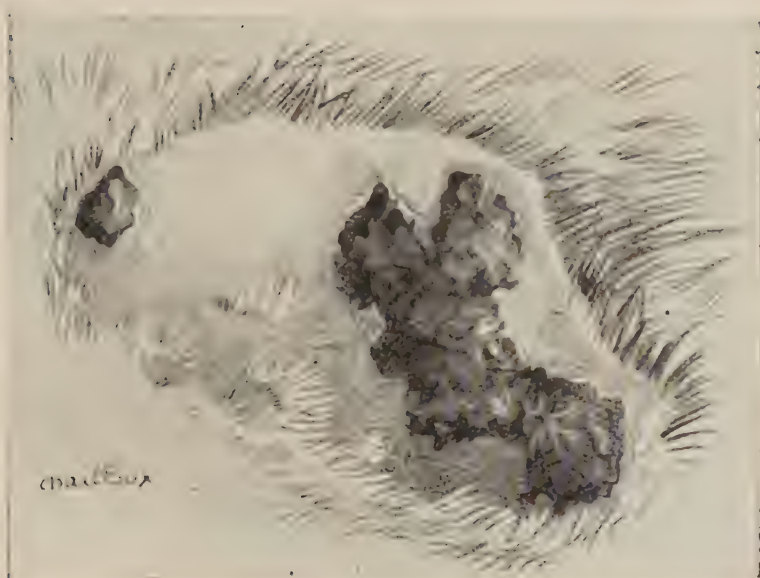


Fig. 1
(Voir page 27)



Fig. 2
(Voir page 47)

PLANCHE II



Fig. 3
(Voir page 46)



Fig. 4
(Voir page 47)

0
1
2

BIBLIOGRAPHIE

- (1) BÉCLERE-CHAMLEON-ST-YVES-MÉNARD. Annales de l'I. Pasteur. 1896, 1898, 1899.
- (2) DURAN-REYNALS. C. R. S. B. 99, 1928, p. 6 et 108.
MAC-CLEAN. Path. and Bact. 1930, 33 p. 1.045.
STEWART et DURAN-REYNALS. J. of exp. Med. Tome 50, 1929, p. 341.
HOFFMANN et DURAN-REYNALS. J. of exp. exp. Med. Tome 53, 1931, p. 387.
DURAN-REYNALS. Annales I. Past. Tome 57, 1936 Décembre n° 6.
- (3) MACCLEAN. J. of pat. and bact. 1931, 34 p. 2 ; 1931, 34 p. 499 ; 1930, p. 1.045 ; 1936, 42 p. 457.
- (4) MADINAVEITIA. Bio. J. March 1939, 33 p. 347 ; Sept. 1939, 33 p. 1.470.
- (5) LEVADITI et VOET. Presse Médicale 1937, p. 43.
- (6) L. CAMUS. Bull. Ac. Méd. 1916. Tome 76, p. 342 ; 1917. T. 77, p. 3 ; C. R. Soc. Bio. 1916. T. 79, p. 1.108 ; Bull. Ac. Méd. 1916. T. 74 ; C. R. Soc. Bio. 1917. T. 80, p. 906 ; Bul. Ac. Méd. 1916. T. 86, p. 433 ; Bul. Ac. Méd. 1917. T. 77, p. 402 ; Jour. physio. et Pat. génér. 1917. T. 17, p. 244 ; Journ. physio. et Pat. génér. 1917-1918. T. 17, p. 638 ; Bul. Ac. Méd. 1923. T. 90, p. 79.
- (7) GASTINEL et FASQUELLE. C. R. S. B. 29 avril 1939. Tome 130, p. 1.554 ; C. R. S. B. 1941. T. 135, p. 124.
- (8) BURNETT et CONSEIL. C. R. S. B. 1924. T. 90, p. 1.408.
CAMUS. Bul. Ac. Méd. 1923, T. 90, p. 79.
THOMSON et BUCH-LINDER. J. Immuno. 1923. Tome 22, p. 267.
ALDERSHOFF-POUDMAN et POTT. An. I. Past. 1929. T. 42, p. 1.268.
- (9) NOGUCHI. J. exp. med. 1915. T. 21, p. 539.
HENSEVAL. Bull. Ac. Roy. Belg. 2 Nov. 1910.
HARDE. C. R. Soc. Bio. 1915. T. 78, p. 543.

- (10) GASTINEL et FASQUELLE. C. R. S. B. 1939. T. 130, p. 724 ;
C. R. S. B. 1941. T. 135, p. 1.179 ; Annal. I. Past. 1943.
T. 69, p. 319.
- (11) THOMAS et DURAN-REYNALS. J. exp. Med. 1935. T. 62, p. 39 ;
Gro. Soc. exp. bio. Med. 1934. T. 31, p. 1.201.
- (12) MANGANOTTI. Policlinico (sez. Med.). Nov. 1938. T. 45,
p. 544.
THOMAS et DURAN-REYNALS. J. e. M. 1935. T. 62, p. 39.
SMITH. J. Path. Bac. 1934. T. 34.
TANZER. J. exp. Med. 1932. T. 55.
- (13) DURAN-REYNALS. Proc. soc. exp. biol. med. June 1938,
p. 763. J. exp. Med. T. 69. Janv. 1939, p. 69.
- (14) VAN-DER-SCHUEREN. C. R. S. B. T. 120, 1935, p. 261.
BAYLAUD et MAC-CLEAN. J. pat. bac. 1935. T. 41, p. 553.
DURAND-REYNALS. Proc. Soc. exp. bio. méd. 1935. T. 32.
p. 1.517.
HOFFMANN-PARKER-WALKER. Amer. J. path. 1931. T. 7,
p. 523.
DURAN-REYNALS et CLAUDE. Proc. Soc. exp. bio. méd.
1934. T. 32, p. 67.
DURAN-REYNALS. J. exp. med. 1931. T. 54, p. 493.
TANZER. J. exp. med. 1932. T. 55, p. 455.
PRIME-HAAGENSEN. Am. J. Cancer. 1934. T. 20, p. 630.
STEWART et DURAN-REYNALS. J. exp. Med. 1929. T. 50.
p. 341.
VAN-DER-SCHUEBEN. C. R. S. B. 1935. T. 120, p. 261.
- (15) ALBERT CLAUDE. J. of. exp. Med. 1935. T. 62, p. 229.
- (16) FAVILLI. J. pat. and. bact. 1934. T. 38, p. 153.
- (17) CHAIN et DUTHIE. Nature 1939, n° 36. T. 58, p. 977.
- (18) MADINAVEITIA. Bioch. J. T. 33. March 39, p. 347.
- (19) G. CAPORALE. Bol. de sez. Ita. d. soc. int. d. microb. Mai,
Juin 1939. T. 11, p. 144.
- (20) MANNOZZ-TORINI. Arc. d. soc. bio. Oct. 1939. Tome 25.
Page 473.
- (21) FAVILLI. Sper. 1932. T. 66, p. 103 ; 1933. T. 68, p. 451.
COSENTINO. Pathologica 15 Janv. 1940. T. 32, p. 26 ;
Riv. di pat. sper. 1939. T. 23, p. 225.
GIARANFI. Sper. 1933. T. 67, p. 471.

- FAVILLI. Bol. sez. Ita. micr. fax II Fev. 1933.
 MAC-CLEAN. J. of. Path. a. bact. 1930. T. 33, p. 1.045 ;
 1932, t. 34, p. 459 ; Biological review 1933. T. 8.
- (22) TARABINI-CASTELLANI. Arc. It. di Med. sper. Oct. 1938.
 T. 2, p. 969.
- (23) BRONFERBRENNER et SULKIN. J. inf. dis. July aug. 1939.
 T. 65, p. 64.
- (24) WILSON. Aust. j. exp. biol. a. med. sco. Dec. 1939. T.
 17, p. 393.
- (25) D.-H. SPRUNT et MAC-DEARMAN. Endocrino. Aug. T. 25,
 p. 308.
- (26) J.-J. HEAD et R.-M. THOMAS. Yale J. biol. med. Oct.
 1939. T. 12, p. 69.
- (27) GIUFFRÉ. Bol. di inst. sierot. milanese. Aug. 1939. T.
 18, p. 517.
- (28) SPRUNT-HOOKER et RAPER. Proc. soc. exp. bio. and med
 Juin 1939. T. 41, p. 398.
- (29) SCHUPFER. Amn. di. ottal. e. cli. ocul. Juillet 1939, t.
 67, p. 527.
 FAVILLI. J. exp. med. T. 54, 1931, p. 197 ; J. cell. and
 c. physiol. 1932. T. 2, p. 1 ; Lo Sperimentale 1931. T.
 85, p. 561 ; Lo Sperimentale 1932. T. 86, p. 303 ; Lo
 sperimentale 1933. T. 87, p. 451 ; Lo sperimentale 1935.
 T. 89, p. 24 ; Bol. Soc. Ital. Biol. Sper. 1932. T. 7, p. 10 ;
 Bol. Soc. Ital. Biol. Sper. 1935. T. 15, p. 115 ; Bol. Sez.
 It. So. Ind. di Mic. 1933 (V, II, 1932) ; Bol. I. S. M.
 1938, T. 2 ; J. of. path. and. bact. 1934. T. 38.
- (30) FAVILLI. Bol. d. ist. sier. Milanese Nov. 1938. T. 17,
 p. 711.
- (31) DURAN-REYNALS. Yale J. biol. med. Juillet 1939. T. 2,
 p. 601.
- (32) SORCE. Sperm. arc. di biol. 1939. T. 93, p. 558.
- (33) DURAN-REYNALS. J. exp. Med. T. 58, p. 161, 1933 ; Rev.
 Med. de Barcelona. Fev. 1934.

- (34) MAC-CLEAN. J. Pat. bac. 1936. T. 42, p. 477.
GORDNER. J. exp. Med. 1931. T. 54, p. 847.
GORDNER. J. exp. med. 1933. T. 58, p. 153.
DURAN-REYNALS. Science 1936. T. 83, p. 286.
MORGAN et MAC-CLEAN. J. soc. ch. ind. 1932. T. 44,
p. 912.
CLAUDE et DURAN-REYNALS. Proc. soc. exp. biol. med.
1937.
- (35) VALKER et HOFFMAN. Amer. J. Pat. 1933. T. 9, p. 651.
- (36) BRUNI. Sett. Med. 14 Sept. 1939. T. 27, p. 1.105.
- (37) CLAUDE et DURAN-REYNALS. J. exp. Med. 1931. T. 53,
p. 387.
- (38) BAYLAUD et MAC-CLEAN. J. Path. Bact. 1935. T. 41, p. 553.
- (39) DURAN-REYNALS. J. exp. Med. 1932. T. 55, p. 703 ; J.
exp. Med. 1931. T. 54, p. 493.
TANZER. J. exp. Med. 1932. T. 55, p. 455.
- (40) O.-N. FELLOVES et N.-P. HUDSON. Am. J. Hyg. Sect. B
Juillet 1939, p. 11.
- (41) HOFFMANN et DURAN-REYNALS. J. exp. Med. 1931. T. 53,
p. 387.
- (42) TILLET et GARNER. J. exp. Med. 1933. T. 58, p. 485.
DENNIS et BERBERIAN. J. exp. Med. 1934. T. 60, p. 581.
- (43) M. NEGRI. Arc. Ita. di med. oper. Juillet 1938. T. 2,
p. 611.
- (44) MIDY. Le conjonctif. Masson 1936.
- (45) AYLWARD. Proc. soc. exp. biol. N. Y. 1937. T. 36, p. 447.
- (46) GELHORN et REGNIER. « La perméabilité ». Masson 1936.
Edit. Paris.
- (47) CHRISTENSEN. Nature London. 1938. T. 37, p. 142.
- (48) CLAUDE et DURAN-REYNALS. J. exp. Med. 1937. T. 65,
p. 661.
- (49) CASSUTO. Lo sperimentale, 1933. T. 87, p. 211.
FIOCCO, G. I. D. 1936. T. 77, p. 741.
- (50) PIYAON. J. exp. Med. 1931. T. 53, p. 37.

- (51) BORREL. An. Ins. Past. 1903. T. 17, p. 99 ; Bull. Ins. Past. 1907. T. 5, p. 497.
- (52) LEVADITI et NICOLAU. C. R. Ac. des Sciences. 1921. T. 173, p. 870 ; C. R. Ac. Sc. 1922. T. 174, p. 249 ; C. R. S. B. 1922. T. 86, p. 77, 293, 525, 910, 986 ; An. I. Past. 1923. T. 37, p. 1.
LEVADITI. C. R. S. B., 1921. T. 85, p. 425. Edit. Paris.
LEVADITI. Les ectodermoses neurotropes. Masson, édit. Paris 1922.
- (53) LEVADITI, FASQUELLE, REINIE et SCHOEN. An. Inst. Past. 1938. T. 60, p. 142.
LEVADITI, FASQUELLE, MESROBEANU, REINIE, STAMARTIN et BEQUIGNON. Revue Immunol. 1938. T. 4, p. 481.
- (54) GASTINEL. Des réactions d'infection et d'immunité dans vaccine et variole. Thèse Paris 1913. Steinhilber éditeur Paris.
FASQUELLE. Le Sérum Anti-Vaccin. Thèse Paris 1938. Peyronnet, édit.
- (55) GASTINEL et FASQUELLE. An. Inst. Past. 1942. T. 68, p. 249.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION	11
PLAN	15
CHAPITRE PREMIER : <i>Ce que détermine l'injection dans le derme d'extrait testiculaire isolé ou associé à des particules colorées</i>	17
I. — Aspect immédiat de l'injection intradermique d'extrait testiculaire	17
II. — Effet diffusant de l'extrait testiculaire sur des particules colorées injectées par voie intradermique	18
CHAPITRE II. — <i>Extrait testiculaire et virus vaccinal</i>	23
I. — Caractères dissemblables du virus vaccinal de souche épidermique et de souche cérébrale	24
II. — Vaccines généralisées et extrait testiculaire	30
III. — Orchite vaccinale et extrait testiculaire	34
IV. — Allergie vaccinale	40
CHAPITRE III. — <i>Extrait testiculaire et tuberculose</i>	45
I. — Diffusion du bacille de Koch humain chez les animaux neufs	45
II. — Du rôle du facteur de diffusion dans les surinfections expérimentales	48
III. — Du rôle du facteur de diffusion dans les réactions tuberculiques	51
CHAPITRE IV. — <i>Sources des facteurs de diffusion</i>	57
CHAPITRE V. — <i>Isolement et préparation du facteur de diffusion testiculaire</i>	63
CHAPITRE VI. — <i>Essai de synthèse du facteur de diffusion</i>	71
CHAPITRE VII. — <i>Mode d'action des facteurs de diffusion</i>	75
CHAPITRE VIII. — <i>Déductions</i>	91
Déductions théoriques	91
Déductions pratiques	99
CONCLUSION	101
BIBLIOGRAPHIE	105

Planchés	1 : fig. 1 et 2 113
	2 : fig. 3 et 4 115

